

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchung des Rinderdarmes im Hinblick auf seine Nutzung als natürliche  
Wursthülle und seine Einstufung als spezifiziertes Risikomaterial**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Katrín Zetzsche  
aus Leipzig

Leipzig, 2010

**Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig**

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies

Betreuer: Prof. Dr. Ernst Lücker

Gutachter: Prof. Dr. Ernst Lücker, Institut für  
Lebensmittelhygiene, Veterinärmedizinische  
Fakultät, Universität Leipzig

Prof. Dr. Thomas Alter, Institut für  
Lebensmittelhygiene, Fachbereich  
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Tag der Verteidigung: 29.06.2010

Meiner Familie

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT</b>	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>Transmissible spongiforme Enzephalopathien</b>	<b>4</b>
2.1.1	Transmissible spongiforme Enzephalopathien beim Tier	5
2.1.1.1	Scrapie	6
2.1.1.2	Bovine spongiforme Enzephalopathie	9
2.1.2	Transmissible spongiforme Enzephalopathien beim Menschen	16
2.1.2.1	Klassische Formen der CJD	16
2.1.2.2	Neue Variante der CJD	19
<b>2.2</b>	<b>Lymphatisches Gewebe des Rinderdarms</b>	<b>24</b>
2.2.1	Bestandteile	25
2.2.2	Embryonale Entwicklung	26
2.2.3	Morphologie der <i>Peyer'schen-Platten</i>	27
2.2.3.1	Lymphfollikel	28
2.2.3.2	"dome"	29
2.2.3.3	Follikelassoziiertes Epithel	29
2.2.3.4	M-Zellen	29
2.2.3.5	Interfollikuläre Zone	31
2.2.4	Verteilung und Lage	32
2.2.4.1	Solitärfollikel	32
2.2.4.2	<i>Peyer'sche-Platten</i>	33
2.2.4.3	Lymphoglanduläre Komplexe	34
2.2.5	Involution	34
2.2.5.1	Involution der <i>Peyer'schen-Platten</i>	35
2.2.5.2	Involution der Solitärfollikel und des lymphatischen Gewebes des Dickdarms	36

<b>2.3</b>	<b>Naturdarm</b>	<b>36</b>
2.3.1	Gewinnung und Bearbeitung	38
2.3.1.1	Manuelle Bearbeitung	39
2.3.1.2	Maschinelle Bearbeitung	40
2.3.2	Einsatzmöglichkeiten	41
2.3.3	Wirtschaftliche Bedeutung	42
<b>2.4</b>	<b>Risikoanalyse</b>	<b>43</b>
2.4.1	Risikobewertung	44
2.4.1.1	BSE-Risikobewertung	45
2.4.2	Risikomanagement	49
2.4.2.1	Überwachungsmaßnahmen	50
2.4.2.2	Verfütterungsverbote	53
2.4.2.3	Spezifizierte Risikomaterialien	54
2.4.3	Risikokommunikation	56
<b>3</b>	<b>TIERE, MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>57</b>
<b>3.1</b>	<b>Gewichts- und Längenbestimmung der Ilea</b>	<b>57</b>
3.1.1	Auswahl der Tiere	57
3.1.2	Entnahme der Ilea	58
3.1.3	Bearbeitung der Ilea	59
3.1.4	Bestimmung des Gewichtes und der Länge	60
<b>3.2</b>	<b>Histologische Untersuchungen</b>	<b>60</b>
3.2.1	Ileum	60
3.2.1.1	Auswahl der Tiere	61
3.2.1.2	Entnahme der Ilea	61
3.2.1.3	Bearbeitung der Ileumabschnitte	61
3.2.1.4	Vorbereitung und Anfertigung der Schnitte	63
3.2.1.5	Auswertung der Schnitte und Dokumentation	64
3.2.2	Jejunum	65
3.2.2.1	Auswahl der Tiere	65
3.2.2.2	Entnahme der Jejuna	65

3.2.2.3	Bearbeitung der Jejunumabschnitte	65
3.2.2.4	Vorbereitung und Anfertigung der Schnitte	66
3.2.2.5	Auswertung der Schnitte und Dokumentation	67
<b>3.3</b>	<b>Untersuchung auf <i>Peyer'sche-Platten</i></b>	<b>67</b>
<b>3.4</b>	<b>Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung</b>	<b>68</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>69</b>
<b>4.1</b>	<b>Gewicht und der Länge der Ilea</b>	<b>69</b>
<b>4.2</b>	<b>Histologische Untersuchung der Ilea</b>	<b>73</b>
<b>4.3</b>	<b>Histologische Untersuchung der Jejuna</b>	<b>79</b>
<b>4.4</b>	<b>Untersuchung des Rinderdünndarmes auf sichtbares lymphatisches Gewebe</b>	<b>82</b>
<b>4.5</b>	<b>Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung</b>	<b>84</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>85</b>
<b>5.1</b>	<b>Gewicht und Länge der Ilea</b>	<b>85</b>
<b>5.2</b>	<b>Histologische Untersuchung der Ilea und Jejuna</b>	<b>88</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>95</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>97</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>99</b>
	<b>ANHANG</b>	<b>135</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>148</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung der Kompartimente einer <i>Peyer-schen-Platte</i>	28
Abbildung 2:	Schematische Darstellung der Schichten des Darmrohrs	38
Abbildung 3:	Darstellung der <i>Plica ileocaecalis</i>	58
Abbildung 4:	Schleimholz für die Bearbeitung der Därme	59
Abbildung 5:	Darmabschnitt mit einem unbearbeiteten und einem bearbeiteten Areal	62
Abbildung 6:	Formalinfixierte Ileumabschnitte	63
Abbildung 7:	<i>Peyer'scher-Platte</i> , unbearbeitetes und bearbeitetes Areal nebeneinander liegend	66
Abbildung 8:	<i>Peyer'sche-Platten</i> im Jejunum	67
Abbildung 9:	Box-Plot Darstellung des Gewichtes und der Länge der Ilea, vor und nach der Bearbeitung	70
Abbildung 10:	Gewicht des unbearbeiteten Ileums in Abhängigkeit vom Alter der Tiere	72
Abbildung 11:	Gewicht des bearbeiteten Ileums in Abhängigkeit vom Schlachtendgewicht der Tiere	73
Abbildung 12:	Schichten der Darmwand einer unbearbeiteten Ileumprobe	74
Abbildung 13:	Schichten der Darmwand einer bearbeiteten Ileumprobe	75
Abbildung 14:	Probe mit einem bearbeiteten und unbearbeiteten Bereich	76
Abbildung 15:	Struktur einer <i>Peyer'schen-Platte</i> im Jejunum	78
Abbildung 16:	Struktur einer <i>Peyer'schen-Platte</i> im Ileum	79
Abbildung 17:	Übergangsbereich zwischen einem bearbeiteten und unbearbeiteten Bereich	80
Abbildung 18:	Häufigkeitsverteilung des Alters der Rinder mit und ohne <i>Peyer'sche-Platten</i>	83

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Bei Menschen und Tieren vorkommende transmissible spongiforme Enzephalopathien	5
Tabelle 2:	Von 2000-2009 in Deutschland bestätigte BSE-Fälle	14
Tabelle 3:	Partikel, Makromoleküle und Mikroorganismen, die von M-Zellen aufgenommen werden	30
Tabelle 4:	Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Brühwürsten	41
Tabelle 5:	Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Rohwürsten	41
Tabelle 6:	Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Kochwürsten	42
Tabelle 7:	Gesamte Infektiosität bei einem BSE-Fall nach dem Scientific Steering Committee(1999)	46
Tabelle 8:	Gesamte Infektiosität bei einem BSE-Fall nach COMER und HUNTLY (2004)	47
Tabelle 9:	Rechtliche Spezifikation der Risikomaterialien bei Rindern in der EU seit 1997	55
Tabelle 10:	Alter, Geschlecht, Schlachtendgewicht und Rasse der Rinder	69
Tabelle 11:	Gewicht und Länge der bearbeiteten und unbearbeiteten Ilea	70
Tabelle 12:	Gewicht des bearbeiteten Ileums in Abhängigkeit vom Alter und Geschlecht der Rinder	72
Tabelle 13:	Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Ilea	77
Tabelle 14:	Anzahl der Schnitte aus den Ileumproben mit und ohne lymphatischem Gewebe	78
Tabelle 15:	Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Jejuna	81
Tabelle 16:	Anzahl der Schnitte aus den Jejunumproben mit und ohne lymphatischem Gewebe	81
Tabelle 17:	Ergebnisse der Untersuchung auf PP im Ileum und Jejunum	83
Tabelle 18:	Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung der Därme	84
Tabelle 19:	Quantitative Risikobewertung: Gegenüberstellung der Werte des Ileums	87



## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BASE	Bovine Amyloide Spongiforme Encephalopathy
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BgVV	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
boID <sub>50</sub>	bovine orale infektiöse Dosis
boID <sub>50</sub> /g	bovine orale infektiöse Dosis pro Gramm
BSE	bovine spongiforme Enzephalopathie
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
bzw.	beziehungsweise
CJD	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
vCJD	Variante der CJD
cm	Zentimeter
DFV	Deutscher Fleischer-Verband
d.h.	das heißt
DPP	<i>Peyer'sche-Platten</i> des Duodenums
DNV	„Det Norske Veritas Ltd“
EC	Europäische Kommission
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EG	Europäische Gemeinschaft
ENS	enterische Nervensystem
EU	Europäische Union
EUROCJD	The european and allied countries collaborative study group of CJD
evtl.	eventuell
FAE	Follikelassoziiertes Epithel
fCJD	familiäre Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
fe	weiblich
FDC	follikulär dendritische Retikulumzellen
FSE	feline spongiforme Enzephalopathie

g	Gramm
GALT	darmassoziiertes lymphatisches Gewebe
GD	Gewichtsdifferenz
G <sub>B</sub> (g)	Gewicht der bearbeiteten Probe in Gramm
G <sub>U</sub> (g)	Gewicht der unbearbeiteten Probe in Gramm
HE	Färbung mit Hämatoxinilin und Eosin
iCJD	iatrogene Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
IHC	Immunhistochemie
I	Ileum
IP	Inkubationsperiode
IPP	<i>Peyer'sche-Platte</i> des Ileums
IZP	Ileozäkalplatte
J	Jejunum
JPP	<i>Peyer'sche-Platten</i> des Jejunums
kg	Kilogramm
LF	Lymphfollikel
LFRA	Leatherhead Food Research Association
LG	lymphatisches Gewebe
LGK	lymphoglanduläre Komplexe
L <sub>B</sub> (cm)	Länge der bearbeiteten Probe in Zentimeter
L <sub>U</sub> (cm)	Länge der unbearbeiteten Probe in Zentimeter
m	Meter
ma	männlich
MAFF	Minister of Agriculture, Fisheries and Food
MALT	mukosaassoziiertes lymphatisches Gewebe
MBM	Fleisch-Knochen-Mehl
Met	Methionin
MLC	Meat and Livestock Commission
Mo	Monate
NG	Nervengewebe
OIE	Weltorganisation für Tiergesundheit
p.i.	nach der Infektion (post infectionem)
PP	<i>Peyer'sche-Platten</i>
PRNP	Prion-Protein codierendes Gen

PrP <sup>C</sup>	zelluläres Prion-Protein
PrP <sup>Sc</sup>	infektiöses Prion-Protein
RM	Rückenmark
sCJD	sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
SF	Solitärfollikel
SRM	spezifiziertes Risikomaterial
SSC	Scientific Steering Committee
Tab.	Tabelle
TBM	Sternhimmelzellen
TGJB	Tiergesundheitsjahresbericht
TSE	transmissible spongiforme Enzephalopathie
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
Val	Valin
vCJD	neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
VK	Vereinigtes Königreich
VO	Verordnung
WB	Western-Blot
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
z.T.	zum Teil
ZVN	Zentralverband Naturdarm
µm	Mikrometer
%	Prozent

## 1 EINLEITUNG

Nach der Erstbeschreibung der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) 1986 in England (WELLS et al. 1987) wurde Ende des Jahres 2000 die Erkrankung erstmalig bei einem in Deutschland geborenen und aufgewachsenen Rind diagnostiziert (GROSCHUP und STOLZE 2000). Bis heute (Stand: 24.11.2009) wurde autochthone BSE in Deutschland bei insgesamt 406 Rindern durch das Friedrich-Loeffler Institut, als nationales Referenzlabor, bestätigt (OIE 2009a; BMELV 2009a).

Die ersten Fälle einer neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) wurden 1995 im Vereinigten Königreich (VK) dokumentiert (WILL et al., 1996). Bis heute (Stand 24.11.2009) sind im VK 169 Erkrankungen aufgetreten (EUROCJD 2010). Seither sind vCJD-Fälle weltweit aufgetreten, jedoch keiner in Deutschland (COLLEE et al. 2006; EUROCJD 2009). Die Ergebnisse der Studien von BRUCE et al. (1997) und HILL et al. (1997a) bewiesen die Hypothese, dass die vCJD die BSE des Menschen darstellt. Der vermutete Zusammenhang zwischen der oralen Aufnahme von BSE-infiziertem Material und dem Auftreten der vCJD (WILL et al. 1996) konnte bis heute nicht verifiziert werden.

Ende 1989 wurde im VK zum vorbeugenden Schutz des Verbrauchers vor einer Exposition mit dem BSE-Erreger die Verwendung von bestimmten bovinen Schlachtnebenprodukten für die menschliche Ernährung verboten (MAFF 1989). Vergleichbare Maßnahmen traten in der Europäischen Union (EU) erst Ende 2000 in Kraft (ANON. 2000b; ANON. 2001). Eine der wichtigsten Maßnahmen zum vorbeugenden Schutz der Verbraucher stellt die Entnahme und unschädliche Beseitigung der sogenannten spezifizierten Risikomaterialien (SRM) dar.

Um die betreffenden Risikomaterialien identifizieren zu können, sind Studien über die Pathogenese der BSE erforderlich. In der englischen Pathogenesestudie konnten WELLS et al. (1994) Infektiosität im bovinen distalen Ileum von experimentell infizierten Kälbern nachweisen. Mittels Immunhistochemie (IHC) wurde infektiöses Prion-Protein (PrP<sup>Sc</sup>) in den *Peyer'schen-Platten* (PP) (TERRY et al. 2003; WELLS et al. 1998, 2005) sowie im *Plexus nervorum myentericus* dargestellt (TERRY et al. 2003; IWATA 2006). In den Untersuchungen von BUSCHMANN und GROSCHUP (2005) wurde, bis heute einmalig, auch der Nachweis von Infektiosität in den PP des

distalen Ileums bei einem natürlich an BSE erkranktem Rind erbracht. Die PP des distalen Ileums stellen mit hoher Wahrscheinlichkeit den Ort der Aufnahme des BSE-Agens, nach einer oralen Infektion, dar (BUSCHMANN und GROSCHUP 2005). Obgleich im Rahmen verschiedener Studien der gesamte Darm, sowohl von experimentell als auch von natürlich infizierten Rindern, untersucht wurde, konnte darin bisher, mit einer einzigen Ausnahme (EFSA 2009), keine Infektiosität bzw. PrP<sup>Sc</sup> nachgewiesen werden (WELLS et al. 1994; TERRY et al. 2003; HOFFMANN et al. 2007).

Aufgrund der Erkenntnisse aus den Pathogenitätsstudien (WELLS et al. 1994, 1998) wurde Ende 2000 zunächst das Ileum und nachfolgend der gesamte Darm (Duodenum bis Rektum, einschließlich Mesenterium) von Rindern aller Altersklassen rechtlich zum SRM erklärt (ANON. 2000b; ANON. 2001). Dieser muss somit nach der amtlichen Fleischuntersuchung separat beseitigt werden und steht der Fleischwirtschaft für die Produktion von Wursthüllen nicht mehr zur Verfügung. Der Darm der kleinen Wiederkäuer zählt, bis auf das Ileum, nicht zu den SRM (ANON. 2001).

Um das von verschiedenen bovinen Materialien ausgehende humane BSE-Risiko und die Effektivität, der zum Schutz des Verbrauchers ergriffenen Maßnahmen einschätzen zu können, werden quantifizierende Risikobewertungen durchgeführt (SSC 1997, 1999; COMER 2004). Diese erfolgten auch für das bovine distale Ileum. Für eine exakte quantifizierende Risikobewertung ist die Masse des möglicherweise in die Nahrungskette eingebrachten potentiell infektiösen Materials ein wesentlicher Parameter. Sämtliche Risikoabschätzungen legen derzeit ein Ileumgewicht von 800 g pro adultem Rind zugrunde. Eindeutige Literaturangaben, welche diese Größe wissenschaftlich belegen, fehlen.

In der vorliegenden Arbeit wurden bovine Ileä und Jejunä jeweils vor und nach einer definierten Bearbeitung auf das Vorkommen von lymphatischem Gewebe (LG) untersucht. Die Ergebnisse sollen weitere Daten für die derzeit stattfindende Diskussion über eine mögliche Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen liefern. Unter Verwendung der verfügbaren Literatur werden diese hinsichtlich des Schutzes der Verbraucher vor der potentiellen Übertragung des BSE-Agens und der Einstufung des gesamten Rinderdarmes als SRM diskutiert.

Weiterhin beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit dem Problem der wissenschaftlichen Bewertung des humanen BSE-Expositionsrisikos, welches vom bovinen Ileum ausgeht. Dazu wurde das Ileum von Schlachtrindern unter kontrollierten Bedingungen entnommen und vor bzw. nach der manuellen Bearbeitung vermessen. Ergibt sich dabei, wie angenommen, ein deutlich niedrigerer Wert, würde dieser eine neue Gewichtsbasis für eine erforderliche Korrektur der quantitativen Risikobewertung des bovinen Ileums darstellen.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Transmissible spongiforme Enzephalopathien

Unter dem Begriff transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE) wird eine Gruppe von neurodegenerativen Krankheiten zusammengefasst, die ausnahmslos durch einen letalen Verlauf gekennzeichnet sind. Sie treten bei Menschen und Tieren auf. Der Erreger der TSE wurde 1982 von PRUSINER (1982) entdeckt und von ihm als proteinähnlicher infektiöser Partikel (Prion) beschrieben (PRUSINER 2006). Die infektiösen Prionen werden nach PRUSINER (2004) aus den zellulären Prion-Proteinen ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) durch Konversion in die pathologische Isoform ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) gebildet. In den histopathologischen Untersuchungen befinden sich im Gewebe des zentralen Nervensystems (ZNS) Plaques, die aus Ablagerungen des Proteinase-Resistenten  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  bestehen. Weiterhin ist eine Zerstörung von Nervenzellen und die Bildung von Vakuolen zusehen (PRUSINER 2006). Die Übertragbarkeit der Erkrankung und schwammartige Veränderungen im Gehirn der betroffenen Individuen, führten zu der Bezeichnung TSE (HÖRNLIMANN et al. 2006a).

Einleitend werden die wichtigsten Formen bei Mensch und Tier in einer kurzen Übersicht vorgestellt (Tab. 1). Vertreter der TSE beim Menschen sind die vier verschiedenen Formen der CJD, die Kuru, das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom und die letale familiäre Schlaflosigkeit, von der auch eine sporadisch auftretende Form existiert. Zu den bei verschiedenen Tierarten beschriebenen TSE zählen die Traberkrankheit (Scrapie) der kleinen Wiederkäuer, die BSE, die chronisch zehrende Krankheit der Hirschartigen, die übertragbare spongiforme Hirndegeneration der Nerze und der Katzenartigen, die spongiforme Enzephalopathie der exotischen Huftiere und die atypischen Formen der Scrapie und BSE (DALSGAARD 2002; BENESTAD et al. 2003; BIACABE et al. 2004; CASALONE et al. 2004; PRUSINER 2004; HÖRNLIMANN et al. 2006a; KONG et al. 2008).

Tabelle 1: Bei Menschen und Tieren vorkommende TSE (modifiziert nach DALSGAARD 2002; BENESTAD et al. 2003; BIACABE et al. 2004; CASALONE et al. 2004; PRUSINER 2004; HÖRNLIMANN et al. 2006a; KONG et al. 2008)

Vorkommen	Internationale Bezeichnung	Abkürzung	Jahr der Erstbeschreibung
Mensch	Sporadic CJD	sCJD	1920/1921
Mensch	Familial CJD	fCJD	1924
Mensch	Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome	GSS	1928/1936
Mensch	Kuru	-	1957
Mensch	Iatrogenic CJD	iCJD	1974
Mensch	Fatal familial insomnia	FFI	1986
Mensch	Variant CJD	vCJD	1996
Mensch	Sporadic fatal insomnia	SFI	1999
Schaf, Ziege	Scrapie	-	1732
Nerz	Transmissible mink encephalopathy	TME	1947/1965
Hirsch	Chronic wasting disease	CWD	1980
Rind, Ziege	Bovine spongiform encephalopathy	BSE	1986/1987 2005
Großer Kudu, Nyala, Oryxantilope	Exotic ungulate encephalopathy	-	1988
Katze	Feline spongiform encephalopathy	FSE	1990
Schaf, Ziege	Atypical scrapie	Nor98	1998
Rind	Atypical BSE	BASE = BSE-L BSE-H	2004

### 2.1.1 Transmissible spongiforme Enzephalopathien beim Tier

Zu den TSE der Tiere gehören die Scrapie der kleinen Wiederkäuer, die BSE, die chronisch zehrende Krankheit der Hirschartigen, die übertragbare spongiforme Hirndegeneration der Nerze und der Katzenartigen, die spongiforme Enzephalopathie der exotischen Huftiere und die atypischen Formen der Scrapie und BSE (DALSGAARD 2002; BENESTAD et al. 2003; CASALONE et al. 2004; BIACABE et al. 2004; PRUSINER 2004; HÖRNLIMANN et al. 2006a). Im Folgenden soll auf die Scrapie und die BSE näher eingegangen werden.



### 2.1.1.1 Scrapie

Die Scrapie tritt bei Schafen, Ziegen und dem europäischen Mufflon auf. Die Erkrankung wurde vor mehr als 250 Jahren erstmals beschrieben. Sie stellt die älteste und am intensivsten untersuchte TSE-Erkrankung bei Tieren dar (JOHNSON 2005; HÖRNLIMANN et al. 2006b). Bisher konnten keine Hinweise für eine Übertragung auf den Menschen gefunden werden, sodass Scrapie als nicht humanpathogen angesehen wird. (GROSCHUP et al. 2006; BUSCHMANN et al. 2008).

#### 2.1.1.1.1 Scrapie bei Schafen

In den meisten Ländern mit Schafhaltung ist Scrapie in den Herden zu finden. Zu den wenigen scrapiefreien Ländern zählen Australien, Neuseeland und Argentinien (HÖRNLIMANN et al. 2006b). In Deutschland sind seit der Einführung der amtlichen Untersuchungspflicht im Jahr 2002 (ANON. 2001) insgesamt 166 Fälle amtlich bestätigt worden (BMELV 2009b, Stand 24.11.2009). Die Symptomatik der Scrapie ist ausgesprochen vielfältig. Es existieren rassespezifische Unterschiede. Besonders am Beginn der klinischen Phase fallen stark variierende Erscheinungsbilder auf. Betroffene Tiere zeigen durch eine Schädigung des ZNS v.a. Änderungen im Verhalten, Koordinationsverlust, Ataxie, Zittern, Juckreiz und Gewichtsverlust (DETWILER und BAYLIS 2003; HÖRNLIMANN et al. 2006b). Nach einer Inkubationsperiode (IP) von drei bis vier Jahren (GROSCHUP et al. 1996) versterben die erkrankten Tiere meist innerhalb von drei bis sechs Monaten (Mo) (JOHNSON 2005). Erste klinische Symptome treten auf, wenn die Schafe zwei bis fünf Jahre alt sind (DAWSON et al. 1998). Histologisch lassen sich Nervenzellverlust, Gliosis, Vakuolenbildung und die Akkumulation des PrP<sup>Sc</sup>, v.a. in der grauen Substanz, nachweisen (WELLS et al. 2006). Die Übertragung der Scrapie findet horizontal, durch Kontakt zwischen den Tieren einer Herde bzw. über die kontaminierte Umwelt aber auch vertikal, vom Mutterschaf auf das Lamm, statt (BEEKES und MCBRIDE 2007; VAN KEULEN et al. 2008). Dabei besitzt der maternale Weg die epidemiologisch größere Bedeutung (GROSCHUP et al. 2006). Untersuchungen zeigen häufig hohe Scrapietiter in der Plazenta erkrankter Tiere, die sowohl für Lämmer, als auch für erwachsene Tiere eine mögliche Infektionsquelle darstellen (PATTISON et al.

1972, 1974; TUO et al. 2001). TSE-Erreger sind in der Umwelt, z.B. auf Weiden oder an Stalleinrichtungen, äußerst widerstandsfähig und bleiben jahrelang infektiös. Sie bilden so eine permanente Infektionsquelle für die horizontale Übertragung (BROWN und GAJDUSEK 1991). Als natürlicher Infektionsweg wird die periphere Übertragung angesehen. Dabei kommt neben der oralen Aufnahme des Erregers über kontaminiertes Futter und Wasser (PATTISON et al. 1974; BEEKES und MCBRIDE 2007) auch der Eintritt über die Konjunktiven (GROSCHUP et al. 1996) und über Verletzungen der Haut (TAYLOR et al. 1996) in Betracht. Nach einer oralen Aufnahme des Agens erfolgt zunächst eine Akkumulation und Replikation des PrP<sup>Sc</sup> im „darmassoziierten lymphatischen Gewebe“ („gut associated lymphoid tissue“ = GALT). Anschließend erfolgt eine weitere Ausbreitung in das restliche LG des Körpers, einschließlich der Milz, bevor über das enterische Nervensystem (ENS) des Darmes und über die afferenten Nervenfasern des Sympathikus und Parasympathikus die Transmission zum ZNS erfolgt (ANDREOLETTI et al. 2000; VAN KEULEN et al. 2000, 2002, 2008; HOFFMANN et al. 2007). Von diesem Weg der Erregerausbreitung gibt es in Abhängigkeit vom genetischen Hintergrund des Tieres, vom vorliegenden Stamm des Agens und der Infektionsdosis mehr oder weniger deutliche Abweichungen (BEEKES und MCBRIDE 2007). Die Scrapie-Übertragbarkeit bzw. -Empfänglichkeit wird wesentlich durch den Genotyp des Prion-Protein codierenden Gens (PRNP) eines Schafes bzw. einer Schafrasse beeinflusst (HUNTER et al. 1996; DAWSON et al. 1998). Dabei ist vor allem die Besetzung der Aminosäuren der Kodons 136, 154 und 171 maßgeblich. Die Empfänglichkeit für Scrapie ist am höchsten, wenn in Position 136 Valin oder Alanin, in 154 Arginin und in 171 Glutamin vorkommt (ELSEN et al. 1999). Dagegen zeichnen sich Schafe mit Alanin in 136 und Arginin in 154 und in 171 durch eine besonders hohe Resistenz gegenüber der Erkrankung aus (DETWILER und BAYLIS 2003).

Neben der oben beschriebenen „klassischen“ Scrapie tritt laut Europäischer Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA 2005a) seit 1998 in fast allen Mitgliedstaaten der EU auch die so genannte „atypische“ Scrapie auf, deren Herkunft bis heute nicht geklärt werden konnte. Der erste Fall wurde in Norwegen beschrieben (BENESTAD et al. 2003). Auch in Deutschland wird seit 2004 die atypische Scrapie diagnostiziert (BUSCHMANN et al. 2004). Von 25 im Jahr 2006 registrierten Fällen waren 22 atypische Scrapiefälle (SELHORST et al. 2007). Alle sieben im Jahr 2008 aufgetretenen Scrapiefälle waren atypische Formen (BUSCHMANN et al. 2009). Die

atypische Form zeigt die PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerung v.a. im Kleinhirn, weniger im Obexbereich. Das PrP<sup>Sc</sup> besitzt eine geringere Resistenz gegenüber der Proteinase K und im Western-Blot (WB) sind 2 Banden mehr als bei der klassischen Form zu sehen. Das lymphoretikuläre System ist bei der atypischen Form nicht mit in die Pathogenese einbezogen (BUSCHMANN et al. 2008). Die erkrankten Schafe zeigen nicht immer klinische Befunde und der typische Juckreiz oder der Verlust der Wolle tritt nicht auf (BENESTAD und BRATBERG 2006). Die atypische Scrapie tritt meist bei Einzeltieren auf. Der Einfluss des Genotyps auf die Empfänglichkeit scheint nicht mit dem der klassischen Scrapie übereinzustimmen. Tiere, die an der atypischen Form erkrankt sind, besitzen häufig Genotypen, welche normalerweise mit einer hohen Resistenz gegenüber der klassischen Scrapie assoziiert sind (BENESTAD und BRATBERG 2006). In Untersuchungen wurde gezeigt, dass ein Wechsel von Leucin gegen Phenylalanin auf Kodon 141 zu einer erhöhten Empfänglichkeit für die atypische Scrapie führt (MOUM et al. 2005).

#### 2.1.1.1.2 Scrapie bei Ziegen

Im Gegensatz zum Schaf, stellt die Scrapie bei der Ziege eine eher selten auftretende Erkrankung dar (WOOD et al. 1992). In Deutschland ist seit Einführung der amtlichen TSE-Untersuchungen kein Fall von Scrapie bei der Ziege festgestellt worden (BUSCHMANN et al. 2009). Erstmals ist Scrapie bei der Ziege 1942 beschrieben worden (HEIM et al. 2002). Wie bei Scrapie der Schafe sind die klinischen Symptome sehr vielfältig. Am beständigsten werden Juckreiz, Gewichtsverlust, Schwierigkeiten beim Melken, Ataxie, Ängstlichkeit oder Aggressivität beobachtet (CAPUCCHIO et al. 2001). Es existieren genetische Konstellationen, die die Scrapie-Empfänglichkeit der Ziegen beeinflussen, indem die IP verändert werden (GOLDMANN et al. 1996). Die atypische Scrapie tritt bei Ziegen ebenfalls auf, wobei kein Zusammenhang zwischen der Empfänglichkeit und dem Genotyp des PRNP existiert (BENESTAD und BRATBERG 2006).

### 2.1.1.2 Bovine spongiforme Enzephalopathie

Im Jahr 1987 wurden erstmals BSE-Fälle bei Rindern aus einer Milchviehherde im VK diagnostiziert und publiziert (WELLS et al. 1987). Nach den Ausführungen von WELLS et al. (1987) traten die ersten klinischen Symptome bereits 1985 auf. Die betroffenen Milchkühe zeigten Hyperästhesie und einen unkoordinierten Gang. Das Verhalten der Tiere war geprägt von Aggressivität, Schreckhaftigkeit und einer gesteigerten Reaktion auf akustische und taktile Stimulation (WELLS et al. 1987). Die routinemäßig durchgeführten histopathologischen Untersuchungen ergaben bilateral symmetrisch degenerative Veränderungen in der grauen Substanz des Hirnstammes. Die Vakuolisierungen im Neuropil und Nervengewebe (NG) variierten zwar in Abhängigkeit von der anatomischen Lokalisation, insgesamt war das Verteilungsmuster bei allen Fällen aber sehr ähnlich (WELLS et al. 1987). Dies deutet darauf hin, dass die BSE-Erkrankung durch einen einzigen Erregerstamm ausgelöst wird (WELLS und WILESMITH 1995). Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Gehirns einer Kuh dieser Herde zeigten die für TSE-Erkrankungen typischen scrapieassoziierten Fibrillen. In Anbetracht der klinischen, histologischen und elektronenmikroskopischen Befunde, die eine große Ähnlichkeit mit den Befunden der Enzephalopathien anderer Tierarten haben, schlugen WELLS et al. (1987) die Bezeichnung „bovine spongiforme Enzephalopathie“ vor. Bereits 1987 im VK durchgeführte Untersuchungen ergaben, dass aufgrund der Verteilung der BSE-Ausbrüche eine gemeinsame Quelle, als Ursache für die Erkrankung, vorliegen muss (WILESMITH et al. 1988; WILESMITH et al. 1991). Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Übertragung des BSE-Erregers auf die Rinder durch die Verfütterung von inadäquat behandeltem Fleisch-Knochen-Mehl (MBM) erfolgte (WILESMITH et al. 1988; SSC 2003). Offensichtlich wurde MBM, welches den BSE-Erreger enthielt, schon ab 1981/1982 im VK an Kälber verfüttert. Umfassende Untersuchungen zeigten, dass die Ende der siebziger Jahre eingeführten Änderungen der Prozessparameter bei der Herstellung des MBM in den Wiederverwertungsanlagen die Anreicherung des TSE-Agens ermöglichte (WILESMITH et al. 1988). Für eine Übertragung durch das MBM spricht auch, dass die meisten der betroffenen Rinder aus Milchviehherden und seltener aus Herden zur reinen Fleischgewinnung stammten. Für die Milchgewinnung aufgezogene Kälber wurden ab der 1. Woche mit MBM gefüttert und erhielten so große Mengen über einen langen Zeitraum

(WILESMITH et al. 1992; WELLS und WILESMITH 2004). Die jährliche Inzidenz der BSE-Neuinfektionen sank nachdem 1988 im VK eingeführten Verbot, Protein, welches vom Wiederkäuer stammte, an Wiederkäuer zu verfüttern (HAYWOOD 1997; SSC 2003). Nach STEVENSON et al. (2000) führte diese Maßnahme zu einer 67%-igen Reduktion des Infektionsrisikos bei Tieren, die im drauffolgenden Jahr geboren wurden. Durch den Export von infizierten Rindern, kontaminierten MBM und Futtermitteln aus dem VK kam es zu einer weltweiten Verbreitung der BSE (COLLEE und BRADLEY 1997; SSC 2003; JOHNSON 2005). Es gilt heute als gesichert, dass unzureichend erhitzte mit BSE-kontaminierte Futterausgangsstoffe bzw. Futtermittel tierischer Herkunft die BSE-Epidemie ausgelöst haben (u.a. BUSCHMANN et al. 2008). Dabei reichen bereits orale Dosen von weniger als 1mg infektiösem Gehirn aus, um die Erkrankung bei Rindern hervorzurufen (EFSA 2005b; WELLS et al. 2007). Für eine horizontale Übertragung, von Rind zu Rind, sowie eine vertikale Übertragung, von der Mutter auf das Kalb, konnten bisher keine Beweise erbracht werden. Beide Wege erscheinen als unwahrscheinlich, da die BSE-Fallzahlen weltweit rückläufig sind (HÖRNLIMANN et al. 2006c). Ungeklärt bleibt, ob die BSE-Epidemie durch die Wiederverwertung von Scrapie-infizierten Schafen ausgelöst wurde, oder ob bei einzelnen Rindern spontan aufgetretene und nicht erkannte BSE-Erkrankungen (atypische BSE, siehe Punkt 2.1.1.2.5) am Beginn der Infektionskette standen (WILESMITH et al. 1988; BROWN 1998).

#### 2.1.1.2.1 Inkubationsperiode und Empfänglichkeit

Die IP der BSE ist von verschiedenen Faktoren abhängig und deshalb sehr variabel (HÖRNLIMANN et al. 2006c). Auf der Grundlage von statistischen Analysen konnte die mittlere IP auf 60 Mo, mit einer Varianz von 18 Mo, geschätzt werden (ANDERSON et al. 1996). Neuere experimentelle Untersuchungen zeigten für eine Dosis von 1g, die in etwa der Dosis unter natürlichen Bedingungen entspricht, eine IP zwischen 45-75 Mo (Durchschnitt 60 Mo) (WELLS et al. 2007). Polymorphismen im PrP<sup>C</sup> beeinflussen bei den TSE- Erkrankungen der kleinen Wiederkäuer und Menschen nachweislich die Empfänglichkeit, sowie die IP (PALMER et al. 1991; HUNTER et al. 1996; DAWSON et al. 1998; CERVENÁKOVÁ et al. 1998; LEE et al. 2001; KOVACS et al. 2005; WILL und IRONSIDE 2006). Beim Rind konnten bisher keine Hinweise für genetisch bedingte Unterschiede in der BSE-Empfänglichkeit

gefunden werden (HUNTER et al. 1994; HÖRNLIMANN et al. 2006c). Dagegen scheint der Polymorphismus in der Promotor-Region des PRNP einen Einfluss auf die IP zu haben (SANDER et al. 2004, 2005; JULING et al. 2006; HAASE et al. 2007). Mutationen in der Promotor-Region des PRNP können zu einer verstärkten Expression des PrP<sup>C</sup> führen und so die IP beeinflussen (BOSSERS et al. 1996). Analysen der DNA-Polymorphismen in der Promotor-Region zeigten neben Insertionen und Deletionen auch Polymorphismen einzelner Basen (KASHKEVICH et al. 2007).

#### 2.1.1.2.2 Erregerstämme

Während bei Scrapie mehr als 20 verschiedene Prionenstämme bekannt sind (BRUCE et al. 2002), konnte bei BSE bis 2004 nur ein einziger Stamm isoliert werden (BRUCE et al. 1994, 2002). Gestützt wurde diese Tatsache dadurch, dass die histopathologischen Veränderungen und Verteilungsmuster der untersuchten BSE-Rinder übereinstimmten (SIMMONS et al. 1996) und dass verschiedene BSE-Erregerquellen bei der Übertragung auf Mäuse ein charakteristisches Muster an neuropathologischen Veränderungen (Läsionsprofil) hervorrief (BRUCE et al. 1994; FRASER et al. 1992). Im Jahr 2004 sind schließlich zwei weitere BSE-Stämme (L-Typ und H-Typ) beschrieben worden, die sich sowohl in der Verteilung des PrP<sup>Sc</sup> im Gehirn, als auch im Profil des WB deutlich von dem bisher bekannten BSE-Erregerstamm unterscheiden (BIACABE et al. 2004; CASALONE et al. 2004; siehe Punkt 2.1.1.2.5).

#### 2.1.1.2.3 Pathogenese

Die Pathogenese der BSE ist seit 1991 Gegenstand vieler Untersuchungen (WELLS und WILESMITH 2004). Durch die Aufklärung der BSE-Pathogenese ist es möglich, die bovinen Materialien mit dem höchsten Erregergehalt zu definieren, das Risiko für eine horizontale oder vertikale Übertragung einzuschätzen, Protokolle für die Diagnostik zu erstellen und Tests, die für eine Anwendung am lebenden Tier bestimmt sind, zu entwickeln (PRINCE et al. 2003). Um den Infektionsweg des BSE-Erregers im Körper verfolgen zu können, werden in experimentellen Studien Kälber oral infiziert, in regelmäßigen Abständen Gewebeproben und Körperflüssigkeiten



entnommen und mittels Mäusebioassay untersucht. Infektiosität konnte dabei bereits sechs (WELLS et al. 1994, 1998) bzw. 12 Mo (ZIEGLER et al. 2006) nach der oralen Infektion im distalen Ileum nachgewiesen werden. Durch immunhistochemische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass das mit der BSE-Erkrankung assoziierte PrP<sup>Sc</sup> in den Lymphfollikeln (LF) der PP des distalen Ileums zu finden ist (TERRY et al. 2003; HOFFMANN et al. 2007). Da es bisher nur bei einem experimentell infizierten Rind gelang PrP<sup>Sc</sup> im LG des Jejunums nachzuweisen (EFSA 2009), scheinen die PP des distalen Ileums, nach einer oralen Infektion, den Ort der Erregeraufnahme darzustellen (BUSCHMANN und GROSCHUP 2005). Wie die Aufnahme des BSE-Agens aus dem Darmlumen über das Darmepithel in die LF der PP erfolgt, konnte bislang nicht gezeigt werden. Untersucht wurde die Aufnahme über die M-Zellen (HEPPNER et al. 2001), eine direkte Aufnahme des PrP<sup>Sc</sup> aus dem Darmlumen durch dendritische Zellen (RESCIGNO et al. 2001a, 2001b) und der Transport in partiell gespaltener und an Ferritin gebundener Form durch die Epithelzellen (MISHRA et al. 2004). Nach der Aufnahme akkumuliert der BSE-Erreger in den Sternhimmelzellen („tingible body“-Makrophagen (TBM)) und den follikulär dendritischen Retikulumzellen (FDC) und ist dort mittels IHC nachweisbar (TERRY et al. 2003; HOFFMANN et al. 2007). Im Gegensatz zu den TSE-Erkrankungen anderer Tiere findet im LG des Darmes keine oder nur eine sehr geringe Replikation des BSE-Erregers statt (VAN KEULEN et al. 2008). Eine weitere Besonderheit ist die begrenzte Beteiligung des lymphoretikulären Systems an der Ausbreitung des BSE-Agens. Bei experimentell infizierten Tieren konnte Infektiosität bzw. PrP<sup>Sc</sup> lediglich in den PP des distalen Ileums, in den Tonsillen und dem Knochenmark nachgewiesen werden (WELLS et al. 1994, 1998, 2005; ESPINOSA et al. 2007; HOFFMANN et al. 2007). Unter Verwendung eines hoch sensitiven transgenen Mäusestammes gelang 2005 erstmalig auch der Nachweis in den PP des distalen Ileums bei einem natürlich an BSE erkrankten Rind (BUSCHMANN und GROSCHUP 2005). Wie die Übertragung des BSE-Erregers von den Zellen des LG auf das ENS, das erste positive NG nach einer oralen Infektion (TERRY et al. 2003; IWATA et al. 2006), abläuft, ist wiederum spekulativ (MABBOTT und MACPHERSON 2006). Da die Nervenfasern des ENS nicht unmittelbar mit den LF der PP in Kontakt stehen, könnte das PrP<sup>Sc</sup> über mobile Immunzellen, wie den dendritischen Zellen, transportiert werden (GLATZEL und AGUZZI 2000; DEFAWEUX et al. 2005). Auch eine direkte Infektion der in der *Tela submucosa* liegenden Nervenfasern, nach der

Aufnahme des PrP<sup>Sc</sup> über das Epithel, ist ein möglicher Weg (JEFFERY et al. 2006). Untersuchungen von DEFAWEUX et al. (2007) liefern Beweise für einen möglichen Transfer von den FDCs und TBM auf die Nervenfasern des Sympathikus. Durch die Verbindung des ENS mit efferenten Nervenfasern des Sympathikus und Parasympathikus gelangt der BSE-Erreger über den *Ganglion celiacum/ mesentericum caudale*-Komplex zum Rückenmark und zum Gehirn (HOFFMANN et al. 2007). Zudem wird die direkte Ausbreitung des PrP<sup>Sc</sup> über die parasympathischen Fasern des *Nervus vagus*, ohne eine Beteiligung des Rückenmarks, diskutiert (HOFFMANN et al. 2007).

#### 2.1.1.2.4 Vorkommen

Die Anzahl der registrierten BSE-Fälle im VK stieg ab April 1987 rapide an. Die meisten Neuerkrankungen traten zwischen 1992-1993 auf, wo durchschnittlich 3500 Fälle pro Mo registriert wurden (COLLEE und BRADLEY 1997; WELLS und WILESMITH 2004). Als Ursachen für die hohe Inzidenz im VK kommen laut WELLS und WILESMITH (2004) die große Anzahl an Schafen, die hohe Scrapie-Inzidenz innerhalb der Schafherden, die intensive Verfütterung von MBM an Milchkühe und die Veränderungen der Parameter in den Tierkörperbeseitigungsanlagen in Betracht. Im Vergleich zum VK zeigten die ebenfalls von BSE betroffenen Länder der EU eine deutlich geringere Inzidenz. Dort wurden zwischen 1999 bis 2001, mit der Einführung der BSE-Schnelltests, (MOYNAGH und SCHIMMEL 1999) die ersten BSE-Fälle erkannt (OIE 2009b). Seit 1986 sind weltweit rund 190.000 Rinder an BSE erkrankt, allein über 186.000 im VK. Insgesamt wurden weit über 3 Millionen Rinder mit dem BSE-Erreger infiziert (BUSCHMANN et al. 2008; GROSCHUP et al. 2008; OIE 2009b).

In Deutschland wurde Ende 2000 der erste autochthone BSE-Fall, bei einem in Deutschland geborenen und aufgezogenen Rind, diagnostiziert und amtlich bestätigt (GROSCHUP und STOLZE 2002). Bis September 2009 (OIE 2009a; BMELV 2009a) wurden insgesamt 406 BSE-Fälle in Deutschland registriert. Die exakte Verteilung der Fälle auf die jeweiligen Jahre zeigt Tabelle 2.



Tabelle 2: Im Zeitraum von 2000-2009 in Deutschland bestätigte BSE-Fälle (OIE 2009a; BMELV 2009a)

<b>Jahr</b>	<b>BSE-Fälle</b>
2000	7
2001	125
2002	106
2003	54
2004	65
2005	32
2006	16
2007	4
2008	2
2009	2*

\* Stand 24.11. 2009

Die Tabelle 2 zeigt, dass die meisten BSE-Fälle in Deutschland im Jahr 2001 auftraten. Ab diesem Zeitpunkt sanken die jährlichen Fallzahlen, mit Ausnahme von 2004, stetig, so dass 2008 und 2009 lediglich 2 bestätigte Fälle auftraten (BMELV 2009a; OIE 2009a). Alle Formen der TSE-Erkrankungen beim Tier sind in Deutschland anzeigepflichtig (ANON. 2004).

#### 2.1.1.2.5 Atypische BSE

Bei der routinemäßigen BSE-Überwachung von Schlachtrindern sind in Japan, Frankreich und Italien zwei weitere BSE-Stämme nachgewiesen worden (YAMAKAWA et al. 2003; BIACABE et al. 2004; CASALONE et al. 2004). Beide zeigen in der anatomischen Verteilung des PrP<sup>Sc</sup> im Gehirn und im WB Abweichungen zur „klassischen“ BSE. Nicht die Obexregion, sondern Thalamus und Riechhirn sind die am stärksten von der PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerung betroffenen Regionen (YAMAKAWA et al. 2003; BIACABE et al. 2004; CASALONE et al. 2004; BUSCHMANN et al. 2008). Der Stamm aus Japan und Frankreich zeichnet sich durch ein höheres Molekulargewicht der unglykosylierten Form des PrP aus und wird deshalb als H-Typ bezeichnet (YAMAKAWA et al. 2003; BIACABE et al. 2004). Der italienische Stamm wird L-Typ genannt, da das Molekulargewicht der unglykosylierten Form des PrP etwas geringer als bei der „klassischen“ BSE ist (CASALONE et al. 2004). Zudem sind in den histologischen Untersuchungen amyloide Plaques zu sehen, weshalb der L-Typ oft auch als Bovine Amyloide Spongiforme Encephalopathy (BASE) bezeichnet

wird (CASALONE et al. 2004; SELHORST et al. 2007; BUSCHMANN et al. 2008). Bei nachträglichen Untersuchungen aller in Deutschland positiv auf BSE getesteten Rinder (bis 2006 insgesamt 389), konnte jeweils ein H- und ein L-Typ nachgewiesen werden (BUSCHMANN et al. 2006). Seit 2004 sind weltweit 39 atypische BSE-Fälle aufgetreten (SELHORST et al. 2008). Experimentelle Untersuchungen, in denen die atypischen Stämme auf Labornager und Rinder übertragen wurden, deuten darauf hin, dass der L-Typ ein höheres zoonotisches Potential aufweist als die klassische Form. Dies gilt nicht für den H-Typ, dort ist das Risiko für eine Übertragung generell niedriger. Des Weiteren scheint die Pathogenese der atypischen BSE kaum von der Pathogenese der klassischen Form abzuweichen (SELHORST et al. 2008). Die Herkunft des H- und L-Typs ist bislang nicht bekannt (BIACABE et al. 2008). Da die atypische BSE fast ausschließlich bei über acht Jahre alten Tieren auftritt und sich die Altersverteilung damit deutlich von der klassischen BSE unterscheidet, kann nach BIACABE et al. (2008) nicht ausgeschlossen werden, dass die atypische BSE eine sporadisch auftretende Form darstellt.

#### 2.1.1.2.6 BSE beim kleinen Wiederkäuer

Dass der BSE-Erreger experimentell auf Schaf und Ziege übertragen werden kann, wurde 1993 erstmalig von FOSTER et al. (1993) gezeigt. In dieser Studie gelang die Infektion der Tiere sowohl intrazerebral, als auch oral. Bis heute gibt es keine Hinweise darauf, dass sich Schafe unter natürlichen Bedingungen mit BSE-Erregern infiziert haben (GROSCHUP et al. 2006). Jedoch wurde 2005, im Rahmen der aktiven Überwachung in Frankreich, der erste natürliche BSE-Fall bei einer Ziege diagnostiziert (ELOIT et al. 2005). Unmittelbar nach der Feststellung des ersten BSE-Falls bei einem kleinen Wiederkäuer, wurden in der EU die bereits bestehenden TSE-Überwachungsprogramme (ANON. 2001) ausgeweitet (ANON. 2005). Es wurden die weitergehende Differenzierung aller positiven TSE-Fälle bei Schafen und Ziegen vorgeschrieben und die Anzahl der zu testenden Ziegen erhöht (ANON. 2005). Seit der Umsetzung der VO (EG) Nr. 214/2005 (ANON. 2005) konnten keine weiteren BSE-Infektionen unter natürlichen Bedingungen beim kleinen Wiederkäuer nachgewiesen werden (SELHORST et al. 2008).

## 2.1.2 Transmissible spongiforme Enzephalopathien beim Menschen

Vertreter der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien beim Menschen sind die sporadische, iatrogene und familiäre Form der CJD, die Kuru, das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom, die letale familiäre Schlaflosigkeit und die sporadische familiäre Schlaflosigkeit, sowie die neue Variante der CJD (Tab.1). Die CJD ist die beim Menschen am häufigsten vorkommende TSE-Erkrankung (JOHNSON 2005). Die nachfolgenden Erörterungen konzentrieren sich auf die verschiedenen Formen der CJD.

### 2.1.2.1 Klassische Formen der CJD

Zu den klassischen Formen der CJD zählen die idiopathisch auftretende sCJD, die vererbte Form der Erkrankung, die fCJD und die iCJD. Die iCJD ist eine durch medizinische Eingriffe übertragene Form (BUDKA 2006).

#### 2.1.2.1.1 Sporadische CJD

Die sCJD ist mit einem Anteil von ca. 85% an den jährlich auftretenden CJD-Fällen die beim Menschen am häufigsten vorkommende TSE-Erkrankung (JOHNSON 2005). Die weltweite jährliche Inzidenz wird mit 0,5 bis 1,5 Fällen pro einer Millionen Menschen angegeben (EUROJCJD 2008).

Zu Beginn der 1990er Jahre sind in vielen Ländern Institutionen zur Überwachung der CJD etabliert worden. Auch in Deutschland ist eine Behörde zur Überwachung in Göttingen eingerichtet worden. Sie erfasst alle CJD-Fälle und führt klinische, neuropathologische, epidemiologische Untersuchungen durch. Aus den seit 1993 dokumentierten Fällen ergibt sich für Deutschland eine Inzidenz von anfänglich 0,6 Fällen pro einer Millionen Menschen pro Jahr. Bis zum Jahre 2005 stieg die Inzidenz auf 1,6, was von HEINEMANN et al. (2007) auf eine höhere Sensitivität bei den Untersuchungen zurückgeführt wird. Die sCJD betrifft sowohl Männer als auch Frauen gleichermaßen (BROWN et al. 1987). Die meisten der registrierten sCJD-Fälle treten im Alter von 45 bis 75 Jahren, mit einer Häufung zwischen 60 bis 65 Jahren, auf. Sehr selten ist die Erkrankung bei Menschen unter 40 und über 80 Jahren. Die Überlebensdauer nach dem Auftreten der ersten klinischen Symptome

beträgt fünf Monate bis maximal ein Jahr (BROWN et al. 1994; HAYWOOD 1997; COLLINGE 1997; JOHNSON und GIBBS 1998; JOHNSON 2005; HEINEMANN et al. 2007). Von der sCJD betroffene Patienten zeigen eine rasch fortschreitende Demenz, gefolgt von Myoklonien und Ataxie. Die histopathologischen Untersuchungen zeigen spongiforme Veränderungen, Verlust von Nervenzellen und Astrozytose. Diese Befunde zeigen sich aber auch bei anderen Erkrankungen des Gehirns und sind deshalb für die CJD-Diagnostik allein nicht aussagekräftig (KRETZSCHMAR 2001). Die exakte Diagnose der sCJD kann nur mittels Gehirnbioptie oder der Autopsie gestellt und sicher von Erkrankungen, die ebenfalls mit Demenz einhergehen, abgegrenzt werden (PEDERSEN und SMITH 2002). Die sonst so typischen amyloiden Plaques sind nur bei zehn Prozent der Betroffenen zu finden, obwohl mittels IHC und Western Blot PrP<sup>Sc</sup>-Ablagerungen im Gehirn nachgewiesen werden können (BUDKA 2003; JOHNSON und GIBBS 1998; JOHNSON 2005). Die Ursache der sCJD ist nicht vollständig aufgeklärt. Es wird eine Umfaltung des PrP<sup>C</sup> in die infektiöse Form, infolge einer somatischen Mutation im PRNP der Körperzellen, vermutet. Als eine weitere Möglichkeit für die Entstehung der sCJD wird eine spontane Konfigurationsänderung des PrP<sup>C</sup> in PrP<sup>Sc</sup> diskutiert (COLLINGE et al. 1991, COLLINGE 1997; BUDKA 2001; PALMER et al. 1991). Wie bei allen CJD-Erkrankungen, haben Menschen mit einer Homozygotie am Kodon 129 des PRNP ein höheres Risiko an CJD zu erkranken. So sind 85% der aufgetretenen sCJD-Fälle homozygot für die Aminosäuren Methionin (Met/Met) oder Valin (Val/Val) (COLLINGE et al. 1991; PALMER et al. 1991; BUDKA 2001). Systematische Analysen des PRNP-Genotyps von sCJD Patienten, dokumentiert zwischen 1990-1993 von der National CJD Surveillance Unit im VK, zeigen ein Verhältnis für das relative Risiko in Bezug auf den Genotyp von 11:4:1, jeweils für Met/Met, Val/Val und die heterozygote Konstellation der Aminosäuren (Met/Val) (WINDL et al. 1996). Der Grund für die höhere Empfänglichkeit ist bisher unbekannt. PALMER et al. (1991) vermuten aber, dass die für das Fortschreiten der Erkrankung notwendige Dimerbildung aus PrP<sup>C</sup> und PrP<sup>Sc</sup> bei den Homozygoten aufgrund der übereinstimmenden Gensequenz effektiver funktioniert. Durch die Bildung der Dimere kommt es zur Umwandlung des PrP<sup>C</sup> in die infektiöse Form. Heterozygote Menschen wären durch die anteilig gebildeten Heterodimere partiell gegen die Erkrankung geschützt.

#### 2.1.2.1.2 Familiäre CJD

Die fCJD, die bei rund zehn bis 15% der CJD-Fälle vorliegt, wird gewöhnlich autosomal-dominant vererbt. Auslöser der Erkrankung sind verschiedene PRNP-Punktmutationen oder Insertionsmutationen (BUDKA 2001; BROWN 1992; KOVACS et al. 2005). Bisher wurden über 50 verschiedene autosomal-dominante Mutationen des PRNP beschrieben (WADSWORTH et al. 2003; JOHNSON 2005). Das klinische Erscheinungsbild ist abhängig von der vorliegenden spezifischen Mutation. Die Symptome treten im Durchschnitt früher als bei der sCJD auf und der Krankheitsverlauf ist deutlich länger (BROWN et al. 1994; JOHNSON 2005). Eine exakte Klassifizierung der erblichen Prionenkrankheiten sollte an Hand einer Analyse der vorliegenden PRNP-Mutationen erfolgen, da ähnlichen phänotypischen und neuropathologischen Erscheinungsbildern verschiedene Mutationen zugrunde liegen können und umgekehrt. (COLLINGE et al. 1992; ZERR und POSER 2001).

#### 2.1.2.1.3 Iatrogene CJD

Die iCJD liegt bei ca. fünf Prozent der CJD-Fälle vor (COLLINS et al. 2004). Erste Hinweise auf eine iatrogene Transmission der CJD ergaben sich 1974, nachdem ein Empfänger einer Hornhauttransplantation 18 Mo später an CJD erkrankte und beim verstorbenen Spender in der pathologischen Untersuchung CJD festgestellt wurde (WILL 2003). Der Zusammenhang zwischen der CJD und der Behandlung mit Hormonen aus der Hypophyse Verstorbener wurde 1985 erkannt (COLLINGE et al. 1991). Als weitere Übertragungswege konnten die Transplantation infizierter Dura mater und die Verwendung kontaminierter neurochirurgischer Instrumente und invasiver Hirnelektroden identifiziert werden. Über 400 diagnostizierter iCJD-Fälle sind weltweit bekannt geworden (BUDKA 2006). Die mittlere IP ist u.a. abhängig von der Infektionsdosis und dem Applikationsort. Sie schwankt zwischen 1,5 und 15,5 Jahren (WILL 2003; ZERR und POSER 2006). Auch das klinische Bild scheint vom Ort der Applikation abzuhängen. Eine Applikation ins oder in die Nähe des ZNS verursacht gewöhnlich Symptome, die der sCJD gleichen, während eine periphere Infektion mit Kuru-ähnlichen Symptomen assoziiert ist (WADSWORTH et al. 2003). Die Untersuchung des PRNP der Betroffenen zeigte eine Häufung der Homozygotie Met/Met und Val/Val am Kodon 129 für die peripher Infizierten. 80% der Patienten mit

einem zentralen Übertragungsweg sind am Kodon 129 homozygot für Met/Met (COLLINGE et al. 1991; ZERR und POSER 2006). Bisher konnte eine Übertragung durch Bluttransfusionen oder durch Verwendung von Produkten aus Blutplasma nicht nachgewiesen werden (FOSTER 2000; LÖWER und KREIL 2006). Um die iatrogene Übertragung der CJD zu verhindern sind eine Reihe von Schutzmaßnahmen eingeführt worden. So werden z.B. neurochirurgische Instrumente nach Eingriffen am ZNS oder Auge und bei Patienten mit Verdacht auf eine TSE-Erkrankung vernichtet oder nach vorgegebenen Anleitungen chemisch dekontaminiert. Die heutzutage verabreichten Hypophysenhormone sind alle gentechnologisch hergestellt (BUDKA 2006; LÖWER und KREIL 2006).

#### 2.1.2.2 Variante der CJD

Die routinemäßigen Untersuchungen der im VK bis 1996 aufgetretenen 207 CJD-Fälle offenbarten im Zeitraum zwischen 1994 und 1996 10 Fälle, bei denen sich die neuropathologischen Befunde deutlich von denen der bisherigen Fälle unterschieden (BRITTON et al. 1995; BATEMAN et al. 1995; WILL et al. 1996). Im Großhirn und Kleinhirn waren ausgedehnte, von Vakuolen gesäumte Plaques sichtbar, die ein eosinophiles Zentrum und eine helle Randzone aufwiesen (WILL et al. 1996). Ungewöhnlich war das niedrige Durchschnittsalter der Betroffenen von 29 Jahren (19-41 Jahre) und der relativ lange Krankheitsverlauf von durchschnittlich 12 Mo (7,5 bis 22,5 Mo). Die Klinik, mit vorwiegend psychiatrischen und schmerzhaft sensorischen Störungen, sowie das Muster des Elektroenzephalogramms wichen ebenfalls von den normalerweise bei CJD vorliegenden Befunden ab. Bei acht untersuchten Patienten konnte eine Homozygotie für Methionin am Kodon 129 nachgewiesen werden. Dies scheint als begünstigender Faktor zu wirken, d.h. die Empfänglichkeit gegenüber der Erkrankung wird erhöht (COLLEE et al. 2006). Aus der Vielzahl an Abweichungen schlossen WILL et al. (1996), dass es sich um eine neue Variante der CJD handeln muss.

##### 2.1.2.2.1 Ursache und Übertragbarkeit

Da die neue Variante anfangs nur im VK auftrat, wurde eine Verbindung zur BSE, als Ursache der Erkrankung, vermutet (BRUCE et al. 1997; HILL et al. 1997a; SCOTT et



al. 1999; BROWN et al. 2003). Um dies nachzuweisen, sind Untersuchungen durchgeführt worden, die zeigten, dass der Erreger der BSE vom Erreger der vCJD nicht zu unterscheiden ist (BRUCE et al. 1997; HILL et al. 1997a). In den Studien sind Hirn-Homogenate von BSE- und vCJD-Fällen auf transgene Mäusestämme übertragen worden. Dabei konnte eine bemerkenswerte Ähnlichkeit zwischen Klinik, pathologischen Befunden und biochemischen Eigenschaften der beiden Prionen-Stämme gefunden werden (BRUCE et al. 1997; HILL et al. 1997a), während sich die Stämme der klassischen Formen der CJD und der Scrapie deutlich von diesen unterscheiden (COLLINGE et al. 1996; GROSCHUP et al. 2006). In Verbindung mit epidemiologischen Daten, die eine zeitliche und räumliche Koinzidenz aufzeigen, lassen die Ergebnisse den Rückschluss zu, dass vCJD die humane Form der BSE ist (ALMOND und PATTISSON 1997; SCOTT et al. 1999; KNIGHT 1999; LASMÉZAS et al. 2001; BUDKA et al. 2002; BROWN et al. 2003). Über biochemisch nachweisbare Glykosilierungs- und Konformationsunterschiede können bei der CJD sieben PrP<sup>Sc</sup>-Typen unterschieden werden. Die Typen 1 und 2 treten bei den sporadischen und iatrogenen Formen auf, Typ 3 nur bei der iatrogenen Form (COLLINGE et al. 1996). In Mäusen, mit vCJD inokuliert, konnte ein fünfter Typ (SIMON et al. 2007) und bei der sCJD noch ein sechster Typ (HILL et al. 2003) nachgewiesen werden. Schließlich isolierten SIMON et al. (2007) bei der Untersuchung eines atypischen sCJD-Falles einen siebten Typ, welcher dem Typ 4 sehr ähnelt. Typ 4 ist ausschließlich bei der vCJD zu finden (COLLINGE et al. 1996). Biochemische Untersuchungen des PrP<sup>Sc</sup> aus dem ZNS von vCJD-Patienten zeigen das gleiche Glykosylierungsprofil, wie das aus BSE positiven Tieren isolierte PrP<sup>Sc</sup> (WILL und IRONSIDE 2006). Auch Katzen mit FSE weisen das Muster des Typ 4 auf (BRUCE et al. 1994; COLLINGE et al. 1996). Für eine Infektion der vCJD-Patienten und Katzen mit BSE sprechen nach BRUCE et al. (1997) und HEWICKER-TRAUTWEIN und BRADLEY (2006) außerdem ähnliche IP und histopathologische Läsionsprofile, die bei der Übertragung der vCJD, FSE und BSE auf verschiedenen Mäusestämmen beobachtet werden konnten. Der Zusammenhang zwischen der BSE und dem Auftreten der vCJD wird weiterhin durch die erfolgreiche intrazerebrale Übertragung des BSE-Agens auf drei Makaken gestützt. Die klinischen, molekularen und neuropathologischen Befunde der untersuchten Affen glichen sehr stark denen von vCJD-Patienten (LASMÉZAS et al. 1996). Die Infektion des Menschen mit dem BSE-Erreger erfolgte nach WELLS et al. (1996), KNIGHT (1999) und LASMÉZAS et al. (2001) mit hoher

Wahrscheinlichkeit über eine orale Aufnahme infektiösen Materials mit der Nahrung. 1999 konnten BONS et al. (1999) zeigen, dass das BSE-Agens oral-experimentell auf Lemuren übertragen werden kann. Auch eine natürliche Übertragung des BSE-Agens auf Lemuren scheint nach BONS et al. (1999) möglich. Das Verteilungsmuster des PrP<sup>Sc</sup> und die neuropathologischen Befunde von Lemuren aus Zoologischen Gärten in Frankreich, welche mit Protein von Rindern angereichertes Futter bekamen, zeigen eine große Übereinstimmung mit denen von oral-experimentell infizierten Lemuren (BONS et al. 1999). COUSENS et al. (2001) untersuchten 2001 in Großbritannien die geographische Verteilung von 84 vCJD-Fällen, die bis November 2000 bestätigt wurden, um den möglichen Übertragungsweg des infektiösen Agens auf den Menschen aufzuklären. Sie verglichen die regionalen vCJD-Inzidenzen mit Daten regionaler Verzehrsgewohnheiten für Fleisch und Fleischprodukte, welche aus zwei verschiedenen Studien für den Zeitraum zwischen 1984-1987 vorlagen. Als potentiell infektiös wurden v.a. Fleischprodukte angesehen, die Separatorenfleisch oder Gewebe aus dem ZNS enthielten (COUSENS et al. 2001). Nach COUSENS et al. (2001) war die Inzidenz für vCJD im Norden von Großbritannien höher als im Süden. Eine positive Korrelation zwischen der vCJD-Inzidenz und dem Verzehr potentiell infektiöser Fleischprodukte konnte mit den Daten einer der beiden Studien über die Verzehrsgewohnheiten belegt werden (COUSENS et al. 2001). Die Untersuchung von COUSENS et al. (2001) offenbarte zudem eine geographische Anhäufung von fünf vCJD-Fällen in der nördlichen Region von Leicestershire. BRYANT und MONK (2001) konnten für vier der fünf Fälle nachweisen, dass mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit die Aufnahme des BSE-Erregers über kontaminiertes Fleisch erfolgte. Das Fleisch wurde Anfang der 80er Jahre bei lokalen Fleischern erworben, welche Rinder nach traditioneller Art schlachteten und dabei sowohl Kopffleisch als auch Gehirne gewannen (BRYANT und MONK 2001). Eine Kontamination des Fleisches anderer Tierarten mit dem BSE-Erreger, welches parallel verarbeitet wurde, war dabei ebenfalls möglich (BRYANT und MONK (2001). Die epidemiologischen Untersuchungen von Leicestershire zeigen, dass nicht nur die Art der verzehrten Fleischprodukte bei der Feststellung des potentiellen vCJD-Risikos betrachtet werden sollte, sondern auch die Methoden der Gewinnung des Fleisches und der Herstellung der Produkte (COUSENS et al. 2001; TREVITT und SINGH 2003). Die größte Wahrscheinlichkeit, dass die Menschen im VK mit dem BSE-Agens kontaminierte Fleischprodukte



aufgenommen haben, bestand laut BRADLEY et al. (2006) und COLLEE et al. (2006) im Zeitraum zwischen 1984-1989. Vor allem das potentiell erregerehaltige Rückenmark (RM) könnte während der Gewinnung von Separatorenfleisch mit abgelöst worden und so in die Lebensmittelkette gelangt sein (WILL und IRONSIDE 2006). Ende der 70er, Anfang der 80er Jahre änderten die Tierkörperbeseitigungsanstalten im VK zudem die Produktionsparameter im Wiederverwertungsprozess. Infolgedessen war nach BRADLEY et al. (2006) und COLLEE et al. (2006) eine Anreicherung des BSE-Agens in Tierkörpermehlen möglich, die anschließend für die Herstellung von Tierfutter verwendet wurden. Die Aufkonzentrierung erreichte 1980/81 die Mengen des BSE-Agens, die nötig waren, um die BSE-Erkrankung mit dem Futter auf Kälber zu übertragen (BRADLEY et al. 2006; COLLEE et al. 2006). Nachdem 1986 die BSE von WELLS et al. (1987) erstmalig bei Rindern beschrieben worden war, leitete die Regierung im VK 1989 erste Maßnahmen zum Schutz der Verbraucher ein. Eine effektive Kontrolle dieser Maßnahmen erfolgte jedoch nicht vor 1995/96, so dass die Periode mit der höchsten Aufnahmewahrscheinlichkeit des BSE-Agens für den Menschen nach BRADLEY et al. (2006) auf Ende der 70er bis Mitte der 90er Jahre ausgedehnt werden kann. In anderen Mitgliedstaaten der EU wurden vergleichbare Maßnahmen zum Schutz der Verbraucher vor dem BSE-Agens dagegen erst Ende 2000 umgesetzt (ANON. 2000b; HEIM und KIHM 2003). Da BSE zurzeit ausschließlich in der post mortem Untersuchung sicher diagnostiziert werden kann (RAEBER et al. 2006), bleibt der gesetzlich vorgeschriebene Test auf BSE und die SRM-Regelung ein essentieller Bestandteil des Verbraucherschutzes. Dies gilt insbesondere im Hinblick auf ZNS-Kontaminationen im Schlachtprozess sowie das nicht ausschließbare Vorkommen sporadischer BSE.

#### 2.1.2.2.2 Inkubationsperiode und Empfänglichkeit

Die durchschnittliche IP der neuen Variante kann bisher nicht exakt angegeben werden, da der Zeitpunkt der Infektion mit dem BSE-Agens nicht bekannt ist (COLLEE et al. 2006). Im Vergleich mit anderen, peripher übertragenen TSE-Erkrankungen des Menschen, scheint die minimale IP 4,5 Jahre und länger zu sein (WILL und IRONSIDE 2006). Beim Überschreiten von Speziesgrenzen ergeben sich üblicherweise längere IP, als bei Transmissionen innerhalb einer Spezies (WILL und IRONSIDE 2006). Nimmt man an, dass das höchste Expositionsrisiko zwischen

1984-89 lag, so ergibt sich laut COLLEE et al. (2006) eine mittlere IP von 10 Jahren. Da der Genotyp am Kodon 129 des PRNP einen Einfluss auf die IP besitzt, ist es möglich, dass vCJD-Fälle, die nicht homozygot für Methionin am Kodon 129 sind, erst nach einer verlängerten IP in Erscheinung treten (WILL und IRONSIDE 2006).

#### 2.1.2.2.3 Lymphoretikuläres Gewebe in der Pathogenese

Die Pathogenese der Prionenerkrankungen kann in drei Phasen unterteilt werden. Auf die Infektion und die periphere Replikation folgen die Ausbreitung von der Peripherie zum ZNS und die Neurodegeneration AGUZZI (2006). Nach HILTON (2006) ist, mit einigen wenigen Ausnahmen, das lymphoretikuläre System sehr zeitig in die Pathogenese eingebunden, wobei sich aber das Ausmaß unterscheidet. Ein Vergleich der verschiedenen CJD-Formen zeigt, dass nur bei der vCJD das LG mit einbezogen ist. So konnte PrP<sup>Sc</sup> u.a. in Tonsillen, Appendix, Milz, Lymphknoten (HILL et al. 1997b, 1999; WADSWORTH et al. 2001) und im terminalen Ileum (JOINER et al. 2005) nachgewiesen werden. Bei den anderen Formen der CJD konnten HILL et al. (1997b, 1999) und WADSWORTH et al. (2001) PrP<sup>Sc</sup> lediglich im Gehirn und RM nachweisen. Diese Besonderheit kann für die ante-mortem Diagnose der vCJD, mit einer 100%igen Sensitivität und Spezifität, eingesetzt werden. Bei allen bisher untersuchten Patienten, die eine positive Tonsillenbiopsie aufwiesen, konnte in der Autopsie das Vorliegen der vCJD bestätigt werden (HILL et al. 1997b, 1999; WADSWORTH et al. 2001). Durch die ausgeprägte Einbeziehung des LG schließen COLLINGE (1999) und WADSWORTH et al. (2001) eine iatrogene Übertragung der vCJD nicht vollständig aus. Potentielle Risiken stellen dabei kontaminierte chirurgische Instrumente, Blut und Blutprodukten dar (COLLINGE 1999; WADSWORTH et al. 2001).

#### 2.1.2.2.4 Verbreitung

Weltweit wurden bis Oktober 2009 insgesamt 216 vCJD-Fälle erfasst (EUROCJD 2010). Die beiden Länder mit den höchsten Inzidenzen sind das VK und Frankreich, mit 169 und 25 vCJD-Fällen. In Deutschland wurde bislang kein vCJD-Fall identifiziert (EUROCJD 2010). Zuverlässige Aussagen über die Anzahl der in Zukunft zu erwartenden vCJD-Fälle sind mit dem derzeitigen Wissensstand nicht möglich.

Berechnungen, die auf mathematischen Modellen basieren, sind mit großen Unsicherheiten verbunden. Viele Einflussgrößen, wie die IP der vCJD, Prädispositionsfaktoren und die minimale orale humane BSE-Infektionsdosis sind unbekannt, so dass häufig unbewiesene Annahmen den Berechnungen zugrunde liegen. Die Folge ist, dass die Berechnungen der zu erwartenden vCJD-Fälle deutlich voneinander abweichen (GHANI et al. 1998, 2000; COUSENS et al. 1997; VALLERON et al. 2001). Aufgrund der jährlich sinkenden Inzidenz konnte die Anzahl der neu zu erwartenden vCJD-Fälle nach unten korrigiert werden (GHANI et al. 2003; COOPER und BIRD 2003; CHADEAU-HYAM und ALPEROVITCH 2005). Dennoch ist eine intensive Überwachung in den weiteren Jahren wichtig, um Veränderungen der vCJD-Inzidenz feststellen zu können. Vor allem durch das Auftreten von vCJD-Fällen bei anderen Genotypen, einer womöglich hohen Anzahl asymptomatischer Infektionen und der theoretischen Möglichkeit einer sekundären Transmission der Erkrankung von Mensch zu Mensch könnte diese nach GHANI (2003) wieder ansteigen.

## **2.2 Das lymphatische Gewebe des Rinderdarmes**

Der Darm stellt eine der größten Kontaktflächen des Organismus zur Außenwelt dar (FLOER 2003) und ist somit von der Ausdehnung das wichtigste lymphatische Organ des Körpers (LIEBICH 1999). Das organisierte LG des Darmes hat in den letzten Jahren in Hinblick auf gastrointestinale Infektionen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Vor allem die PP scheinen nach PABST et al. (1988) eine zentrale Rolle bei der Aufnahme verschiedenster Antigene aus dem Darmlumen und der nachfolgenden Induktion von spezifischen Immunantworten zu spielen. Gleichzeitig stellen sie jedoch auch Eintrittspforten für bestimmte Pathogene dar, die anschließend zu lokalen oder systemischen Erkrankungen führen können (TRIER 1991). Studien, die sich mit der Entwicklung, Verteilung, Struktur und Funktion des organisierten LG im Darm befassen, sind deshalb Voraussetzung, um die Pathogenese oraler Erkrankungen besser zu verstehen.

### 2.2.1 Bestandteile

Die Zellen des lymphatischen Systems bilden einen hochspezifischen Abwehrapparat, der die Integrität und die Individualität des einzelnen Organismus gewährleistet (LIEBICH 1999). Diesem lymphatischen System können in der Wand des Darmkanals drei verschiedene Strukturen zugeordnet werden.

Dazu gehören:

- Peyer'sche-Platten (*Lymphonoduli aggregati*),
- Solitärfollikel (SF; *Lymphonoduli solitarii*) und
- lymphatische Darmkrypten (CARLENS, 1928).

Die lymphatischen Darmkrypten werden in folgenden Studien als lymphoglanduläre Komplexe (LGK) bezeichnet, da sie sich aus SF und Darmkrypten zusammensetzen (O'LEARY und SWEENEY 1986; MORFITT und POHLENZ 1989; UHR 1993; POHLENZ und LIEBLER 1987). Weiterhin ist diffus verteiltes LG zu finden, bei dem die freien Zellen locker zwischen den Stromazellen verteilt liegen (FRIESS und SCHLÜNS 1990; SMOLLICH und MICHEL 1992). FIOCCHI (1989) und LIEBLER-TENORIO (1985) ordnen diesem Gewebe in der *Lamina propria* verteilte sowie intraepithelial gelegene Lymphozyten zu, welche auf der gesamten Länge des Darmkanals zu finden sind. Die immunzellulären Einrichtungen der Darmwand werden alle unter dem Begriff GALT zusammengefasst (OWEN und ERMAK 1990; FEDER 1999). Hierzu zählen die PP, sämtliche solitäre und beetrartige LF aber auch Becherzellen, entero-endokrine Zellen, Makrophagen und Mastzellen (POHLENZ und LIEBLER 1987; POSPISCHIL 1989; PABST 1991). Dem LG des Magen-Darm-Kanals ordnet LIEBLER-TENORIO (1985) neben dem GALT auch die mesenterialen Lymphknoten zu. Das GALT steht in enger Wechselwirkung mit den Schleimhautimmunsystemen anderer Organe, wie z.B. den lymphatischen Einrichtungen der Lunge, der Milchdrüse, des Uterus und den Tonsillen im Pharynx. Es stellt einen Bestandteil des „mukosaassoziierten lymphatischen Gewebes“ (MALT) (POSPISCHIL 1989) dar, das auch als Gesamtschleimhautimmunsystem bezeichnet wird (BIENENSTOCK 1984; McDERMOTT und BIENENSTOCK 1979; BIENENSTOCK und BEFUS 1980).

## 2.2.2 Embryonale Entwicklung

Ausführliche Untersuchungen über die embryonale Entwicklung des LG beim Rind führte CARLENS (1928) im Jahre 1928 durch. Dabei konnte er bereits Ende des 3. bzw. Anfang des 4. Fetalmonats Veränderungen in der *Tela submucosa* der Dünndarmwand nachweisen. An diesen Stellen bildeten sich im Laufe der weiteren Entwicklung PP aus. Makroskopisch sichtbare Vorstadien der PP treten Ende des 4. Fetalmonats auf (CARLENS 1928). Sie sind zuerst in den mittleren Abschnitten des Dünndarms zu finden. ZIETZSCHMANN und KRÖLLING (1955), sowie DOUGHRI et al. (1972) konnten erstmalig bei viereinhalb Mo alten Feten sichtbare PP im Jejunum nachweisen. Zuletzt wird die PP im Ileum (IPP) angelegt (CARLENS 1928). Beim Wiederkäuer existiert eine große Platte im Ileum (ACKERKNECHT 1974; DELLMANN 1993), die sich für gewöhnlich über das *Ostium ileale* hindurch bis in das Zäkum erstreckt (DYCE et al. 1997) und deshalb auch als Ileozäkalplatte (IZP) bezeichnet wird (VOLLMERHAUS und ROOS 1999). ASARI et al. (1989) finden im 5. bzw. 6. Fetalmonat erste Anzeichen für die Bildung der IPP. Die mittlere Fläche dieser Platte ist ca. um das 5-fache geringer als die Fläche der PP im Jejunum (JPP; DOUGHRI et al. 1972). Aufgrund einer massiven Entwicklung der IPP am Ende des Fetalstadiums (CARLENS 1928) verändert sich dieses Verhältnis deutlich zugunsten der IPP. Bei Kälbern im Alter von drei Mo nimmt die IPP ungefähr dreiviertel des Ileums ein und besitzt damit eine Fläche, die doppelt so groß ist wie die der JPP und der PP im Duodenum (DPP) zusammen (LIEBLER-TENORIO 1985). Erst im 5. und 6. Fetalmonat ist in den Platten eine Lymphknötchenbildung zu erkennen. Dabei breiten sich nach CARLENS (1928) die in der *Tela submucosa* entstandenen Lymphozytenhaufen bis in die *Tunica mucosa* aus, während DOUGHRI et al. (1972) die Bildung der Lymphknötchen initial in der *Tunica mucosa*, mit evtl. nachfolgender Ausdehnung bis in die *Tela submucosa*, beschreiben. Prinzipiell steigt die Anzahl der Platten mit zunehmendem Alter der Feten. Im Jejunum sind während der Entwicklung die meisten Platten zu finden, gefolgt vom Duodenum (DOUGHRI et al. 1972). SF kommen in allen Abschnitten des Dünndarmes (CARLENS 1928; DELLMANN 1993) und Dickdarmes (CARLENS 1928; ROONEY 1956) in variierender Anzahl vor und sind erst in den späteren Fetalstadien dort nachweisbar. Sie werden deutlich nach den PP angelegt.

Ebenfalls nach der Ausbildung der PP im Dünndarm erfolgt nach CARLENS (1928) die Entwicklung der lymphatischen Strukturen des Dickdarmes. Dabei dehnt sich die IPP bei den sieben bis acht Mo alten Feten weiter in das Zäkum aus, zeitgleich beginnt die Lymphknötchenbildung im Kolon. In verschiedenen Untersuchungen wurde festgestellt, dass die PP (CARLENS 1928; ROTHKÖTTER und PABST 1989; SAHLENDER 1989; KAWANISHI und KIELY 1989) und die lymphatischen Bildungen im Dickdarm (CARLENS 1928; ASARI 1986) weder in den späten Fetalstadien noch im postfetalen Alter neu entstehen. Somit wird die Anzahl der PP und der LGK ausschließlich in fetalen Entwicklungsabschnitten determiniert. Die Größe der PP wird dagegen maßgeblich von den Haltungsbedingungen und der Erregerexposition beeinflusst (BARMAN et al. 1997). Aufgrund der großen Variation der SF scheint es nach CARLENS (1928) möglich, dass diese z.B. bei pathologischen Veränderungen jederzeit neu entstehen, aber auch wieder vollkommen zurückgebildet werden können.

### 2.2.3 Morphologie der *Peyer'schen-Platten*

Ansammlungen von schleimhautassoziierten SF im Dünndarm werden als PP bezeichnet (VOLLMERHAUS und ROOS 1999; BARR et al. 1985; WEYRAUCH und SMOLLICH 2009). Sie sind nach dem Schweizer Anatomen Johann Conrad Peyer benannt, der diese Strukturen 1677 als Erster beschrieb (OWEN 1994; CORR et al. 2008). Die PP sind bei allen Nutztieren nach dem gleichen Prinzip aufgebaut und gliedern sich in folgende Kompartimente (ABE und ITO 1977, 1978; SMINIA et al. 1983; PABST 1987; POSPISCHIL 1989): LF mit Keimzentrum und Korona, "dome", Follikelassoziiertes Epithel (FAE), Interfollikuläre Zone (Abb. 1).



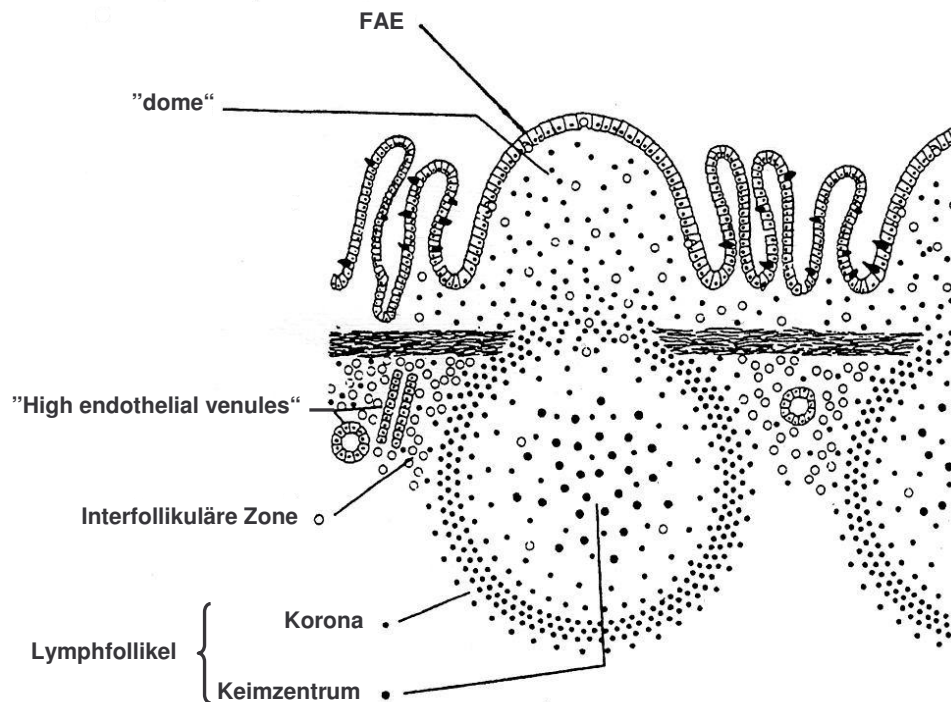


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Kompartimente einer *Peyer'schen-Platte*  
(modifiziert nach PABST 1983, 1987, 1991)

### 2.2.3.1 Lymphfollikel

Der LF setzt sich als Sekundärfollikel aus Keimzentrum und Korona zusammen. Das Keimzentrum liegt in der *Tela submucosa* und enthält Lymphozyten, TBM, sowie FDC. Der größte Teil der Lymphozyten im Keimzentrum sind proliferierende B-Lymphozyten, daneben kommen einige T-Lymphozyten vor (SOBHON 1971; POSPISCHIL 1989; GEBERT et al. 2000; UHR 1993).

Die Korona, welche das Keimzentrum umgibt, besteht vorwiegend aus kleinen Lymphozyten, die wiederum der B-Zelllinie zugeordnet werden können (PABST 1987; POSPISCHIL 1989) und wenigen Plasmazellen (WEYRAUCH und SMOLLICH 2009). Die DPP und JPP bestehen immer nur aus einer Lage LF, während in der IZP bis zu fünf Lagen übereinander liegen können (CARLENS 1928).

### 2.2.3.2 "dome"

Die lumenseitige Vorwölbung des LF wird als "dome" bezeichnet (ABE und ITO 1977; TORRES-MEDINA 1981). Nach POSPISCHIL (1989) erreicht die Vorwölbung nicht die Länge der ihn umgebenden Zotten. Das "dome"-Areal enthält neben kleinen und großen B- und T-Lymphozyten auch Makrophagen, neutrophile Granulozyten und FDC (SOBHON 1971; DOUGHRI 1972; ABE und ITO 1977,1978; REYNOLDS und MORRIS 1983; SMINIA et al. 1983; UHR 1993).

### 2.2.3.3 Follikelassoziiertes Epithel

Das FAE bedeckt die "domes" lumenseitig und stellt die Verbindung zwischen dem LG des Darmes und den Antigenen im Darminhalt dar (CORR et al. 2008). Das FAE besteht aus einer einzelnen Zellschicht (OWEN und JONES 1974) und setzt sich aus verschiedenen Zelltypen zusammen (LIEBLER-TENORIO 1985). Neben enteroabsorptiven Zellen, M-Zellen und intraepithelialen Zellen (OWEN und JONES 1974; LIEBLER-TENORIO 1985) sind auch Makrophagen, Mastzellen, Plasmazellen und neutrophile Granulozyten zu finden (SOBHON 1971; DOUGHRI et al. 1972; ABE und ITO 1977; PABST 1991). Im Oberflächenepithel der "domes" konnten bei Kälbern bzw. Rinderfeten keine (DOUGHRI et al. 1972; TORRES-MEDINA 1981; BEYAZ und ASTI 2004). bzw. bei einem Tier (LIEBLER-TENORIO 1985) Becherzellen nachgewiesen werden.

### 2.2.3.4 M-Zellen

Die hochspezialisierten M-Zellen sind überwiegend auf das "dome"-Epithel des MALT beschränkt (TRIER 1991; DESRIEUX et al. 2005). Auf ihrer Oberfläche weisen sie Einfaltungen auf, die als "microfolds" bezeichnet werden. Auf diese Bezeichnung geht der Name der M-Zellen zurück (POSPISCHIL 1989). M-Zellen besitzen im Gegensatz zu den enteroabsorptiven Zellen keine Mikrovilli (POSPISCHIL 1989) und es fehlt ihnen jegliche enzymatische Aktivität (CORR et al. 2008). Weiterhin ist die Glykokalix auf den M-Zellen deutlich dünner, als über den Mikrovilli der Enterozyten. Dies bedingt vermutlich eine verbesserte Anheftungsmöglichkeit der intestinalen Antigene an die M-Zellen (CORR et al. 2008). An der basolateralen Fläche treten



regelmäßig intraepitheliale Einstülpungen auf, in denen B- und T-Lymphozyten, Makrophagen und dendritische Zellen lokalisiert sind (TRIER 1991; NEUTRA et al. 1996a). Aufgrund der morphologischen Eigenschaften der M-Zellen sehen NEUTRA et al. (1996b) und DESRIEUX et al. (2005) die primäre Funktion nicht in der Verdauung oder Absorption, sondern in einem transepithelialen Transport von Makromolekülen, Partikeln und Mikroorganismen. M-Zellen sind in der Lage verschiedenste intestinale Antigene, via transzellulärer Endozytose, durch die Epithelbarriere in die Keimzentren der darunter liegenden LF zu transportieren und so Immunantworten zu initiieren (POSPISCHIL 1989; NEUTRA et al. 1996a, 1996b; AMERONGEN et al. 1992; KRAEHENBUHL und NEUTRA 1992; BEIER und GEBERT 1998). Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der Substanzen und Mikroorganismen für die ein Transport durch die M-Zellen nachgewiesen werden konnte (AMERONGEN et al. 1992; GEBERT et al. 2000; HEPPNER et al. 2001; CORR et al. 2008).

Tabelle 3: Partikel, Makromoleküle und Mikroorganismen, die von M-Zellen aufgenommen werden (AMERONGEN et al. 1992; GEBERT et al. 2000; HEPPNER et al. 2001; CORR et al. 2008)

Mikroorganismen	Partikel und Makromoleküle
<b>Bakterien</b>	
<i>Brucella abortus</i>	Agglutinine
<i>Bacille bilié Calmette-Guérin</i>	Cholera Toxine
<i>Campylobacter jejuni</i>	Hydroxylapatit
<i>Escherichia coli</i> (O:124)	Kohlenstoffpartikel
<i>Escherichia coli</i> (RDEC-1)	kopolymere Mikrosphären
<i>Listeria monocytogenes</i>	Latexpartikel
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	Lektine
<i>Salmonella enteritidis</i>	Liposomen
<i>Salmonella typhimurium</i>	Meerrettichperoxidase
<i>Shigella flexneri</i>	Natives Ferritin
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Positiv ionisiertes Ferritin
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Prionen
<i>Vibrio cholerae</i>	Rußpartikel
<i>Yersinia enterocolitica</i>	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	
<b>Viren</b>	
Reovirus Typ1	
Reovirus Typ3	
Poliovirus Typ 1	
Human Immunodeficiency Virus Typ 1	
Mouse Mammary Tumor Virus	
<b>Parasiten</b>	
<i>Cryptosporidium</i>	
<i>Giardia muris</i>	

Da M-Zellen nur wenige lysosomale Strukturen aufweisen (OWEN et al. 1986), unterliegen die Antigene während der Transzytose nur in geringem Ausmaße einer ultrastrukturellen Veränderung und werden weitestgehend intakt auf der basolateralen Seite zu den immunkompetenten Zellen der PP weitergeleitet (OWEN 1977; TRIER 1991; CORR et al. 2008). Nach AMERONGEN et al. (1992) existieren an der apikalen Membran der M-Zellen Bindungsstellen für bestimmte Bakterien, Viren, Protozoen und tote Partikel, die Voraussetzung für den Transport durch die M-Zellen sind. Dabei werden nicht alle Mikroorganismen, die sich an die M-Zelloberfläche anlagern, durch das Epithel transportiert (AMERONGEN et al. 1992). M-Zellen stellen mit hoher Wahrscheinlichkeit auch die Eintrittspforte für Prionen nach einer oralen Infektion dar. Mit einem *in vitro* Modell konnten HEPPNER et al. (2001), mittels Mäusebioassay, Infektiosität im basalen Kompartiment der M-Zellen nachweisen. Dies gelang in Versuchen ohne M-Zellen mit einer einzigen Ausnahme nicht, so dass die Autoren von einem aktiven transepithelialen Transport der Scrapieprionen ausgehen (HEPPNER et al. 2001). GHOSH (2002) hält aufgrund der Anwesenheit des PrP<sup>Sc</sup> in den FDC der PP, sowie der lymphoretikulären Ausbreitung eine Aufnahme der Prionen über die M-Zellen beim Menschen für möglich. FDC sind wichtige Zellen im Rahmen der Pathogenese der Prionerkrankungen und der dabei stattfindenden Neuroinvasion (GHOSH 2002).

Untersuchungen von LIEBLER-TENORIO (1985) an gnotobiotisch gehaltenen Kälbern zeigen, dass Unterschiede in der quantitativen Verteilung der M-Zellen im FAE der PP existieren. Während im vorderen Dünndarm die enteroabsorptiven Zellen überwiegen und nur wenige M-Zellen zu finden sind (LIEBLER-TENORIO 1985), dominieren auf den "domes" des Ileums die M-Zellen (TORRES-MEDINA 1981; LANDSVERK 1981a; LIEBLER-TENORIO 1985). M-Zellen sind auch im FAE der in der Darmwand liegenden SF zu finden. Sie zeigen die gleiche Morphologie wie die M-Zellen im FAE der PP (ROSNER und KEREN 1984). ROSNER und KEREN (1984) schließen daraus, dass sie ebenfalls Antigene aufnehmen und lokale Immunantworten induzieren können.

#### 2.2.3.5 Interfollikuläre Zone

Der Bereich zwischen den einzelnen Follikeln wird von SOBHON (1971) und SMINIA et al. (1983) als interfollikuläre Zone bezeichnet. Diese Zone ist reich an kleinen

Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen (SOBHON 1971; ABE und ITO 1977). Charakteristisch sind auch postkapilläre Venulen, die mit einem spezialisierten Endothel ausgestattet sind (SOBHON 1971) und als "high endothelial venules" bezeichnet werden (ABE und ITO 1977; AZZALI 2003). Über die postkapillären Venulen erfolgt nach BLASCHKE et al. (1995) und AZZALI (2003) die Wanderung der lymphatischen Zellen aus den schleimhautassoziierten LF über die Lymphgefäße in den Blutkreislauf und zurück.

## 2.2.4 Verteilung und Lage

Die lymphatischen Einrichtungen treten je nach Darmabschnitt in unterschiedlicher Form, Größe und Anzahl auf. LIEBLER-TENORIO (1985) untersuchte die Ausdehnung des LG im Dünndarm des Kalbes und konnte zeigen, dass die lymphatischen Bildungen im Durchschnitt ca. 8,6% der gesamten Darmfläche einnehmen. Beim Vergleich der absoluten Menge des LG, entfallen auf das Duodenum und Jejunum 35% und das Ileum 65%. Im Ileum sind 52,6% der gesamten Wandfläche mit SF und PP bedeckt, während sie im restlichen Dünndarm lediglich 3,5% der Fläche ausmachen (LIEBLER-TENORIO 1985).

### 2.2.4.1 Solitärfollikel

SF kommen im gesamten Rinderdarm vor (OWEN und ERMAK 1990). Im Dünndarm sind weniger SF zu finden als im Dickdarm (KRÖLLING und GRAU 1960; LIEBLER et al. 1988; ALEKSANDERSEN et al 1990; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Häufigkeit, Größe und Gestalt hängen vom Alter der Tiere und der Lokalisation ab (VOLLMERHAUS und ROOS 1999; FEDER 1999). Nach CARLENS (1928) treten zahlreiche SF unmittelbar hinter dem Pylorus auf, während sie kaudalwärts immer spärlicher werden und schließlich keine SF mehr zu finden sind. Andere Autoren beschreiben eine unregelmäßige Verteilung der SF im gesamten Dünndarm des Rindes (KRÖLLING und GRAU 1960; LANDSVERK 1981a; LIEBLER-TENORIO 1985; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Im Dickdarm sind SF in zunehmender Anzahl im kaudalen Teil des Rektums zu finden, um schließlich im Bereich der *Zona columnaris ani* dichte Haufen zu bilden (CARLENS 1928). Daneben kommen vereinzelt kleine SF im Bereich der *Ansa proximalis coli* und im Zäkum vor

(CARLENS 1928; POHLENZ und LIEBLER 1987). Da die meisten SF im Dickdarm mit den Darmkrypten vergesellschaftet sind, werden sie dort als LGK bezeichnet (SAHLENDER 1989; MORFITT und POHLENZ 1989; UHR 1993). Die SF liegen in der *Lamina propria mucosae* oder in der *Tela submucosa*. Sie können sich auch von der *Lamina propria mucosae* ausgehend bis in die *Tela submucosa* erstrecken. In den beiden letzten Fällen wird die *Lamina muscularis mucosae* durchbrochen (LIEBLER-TENORIO 1985; SAHLENDER 1989; VOLLMERHAUS und ROOS 1999; FEDER 1999). Die SF liegen überwiegend auf der Seite gegenüber der Gekröseanheftung, also antimesenterial (LIEBLER-TENORIO 1985; SAHLENDER 1989). Im Duodenum und Jejunum konnten LIEBLER-TENORIO 1985 und SAHLENDER 1989 sie gelegentlich auch in der lateralen Darmwand nachweisen.

#### 2.2.4.2 Peyer'sche-Platten

Die PP sind gewöhnlich nur im Dünndarm der Rinder zu finden (CARLENS 1928; CORR et al. 2008). Sie sind, mit wenigen Ausnahmen, relativ gleichmäßig über den gesamten Dünndarm verteilt (CARLENS 1928; DELLMANN 1993). Es werden keine PP in den ersten 41 bis 73 cm des Kälberdünndarms (LIEBLER-TENORIO 1985) und den ersten 238 bis 302 cm des Dünndarms bei adulten Tieren gefunden (SAHLENDER 1989). Das kaudale Ende des Ileums wird von dem ilealen Anteil der mächtigen IZP eingenommen (CARLENS 1928; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Nach LIEBLER-TENORIO (1985) nimmt diese Platte in ihrer größten Ausdehnung ca. dreiviertel der gesamten Darmwand des Ileums ein. Lediglich auf einer Breite von 3-5 mm bleibt die Darmschleimhaut an der Seite der Gekröseanheftung noch frei (CARLENS 1928). Die Anzahl der PP schwankt bei den Tieren einer Art innerhalb sehr weiter Grenzen. In der Literatur lassen sich unterschiedliche Angaben dazu finden. Im Durchschnitt geben die Autoren 35-71 PP für juvenile Tiere (Alter: ein Tag bis sechs Mo) und 21-41 PP für Adulte (Alter: ab sechs Mo) an (CARLENS 1928; DOUGHRI et al. 1972; ACKERKNECHT 1974; LIEBLER-TENORIO 1985; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Die Untersuchungen von CARLENS (1928) zeigen jedoch, dass bei einer steigenden Anzahl an PP, die Länge der einzelnen Platten abnimmt. Somit bleibt das Verhältnis zwischen Gesamtlänge der PP und Länge des Darmes ungefähr das Gleiche. Die SF der PP liegen fast ausschließlich in der *Tela submucosa* (DELLMANN 1993). Einige Follikel erreichen über die *Tunica mucosa*

das Darmlumen, wobei sie wiederum die *Lamina muscularis mucosae* durchdringen (CARLENS 1928; LIEBLER-TENORIO 1985). Die Lage der PP in der Darmwand wird in der Literatur als stets antimesenterial (CARLENS 1928; DOUGHRI et al. 1972; SMOLLICH und MICHEL 1992; VOLLMERHAUS und ROOS 1999; CORR et al. 2008) oder überwiegend antimesenterial beschrieben (ACKERKNECHT 1943; KRÖLLING und GRAU 1960; LIEBLER-TENORIO 1985; PABST et al. 1988). Als eine Fortsetzung der IPP ist die in der Nähe des Ileumzapfens im Zäkum ausgebildete Platte anzusehen, die in ihrer Gesamtheit die IZP bildet (CARLENS 1928; ROONEY 1956; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Im Kolon ist auf Höhe der *Ansa proximalis coli* regelmäßig eine gewaltige Ansammlung von Lymphknötchen zu finden (CARLENS 1928; ROONEY 1956; HEBEL 1960; LIEBLER et al. 1988).

#### 2.2.4.3 Lymphoglanduläre Komplexe

LGK sind beim Rind auf den Dickdarm beschränkt, sie kommen im Dünndarm nicht vor (CARLENS 1928; POHLENZ und LIEBLER 1987; SAHLENDER 1989). Nach POHLENZ und LIEBLER (1987) können die Lymphknötchen im Dickdarm zwei morphologisch unterschiedlichen Typen zugeordnet werden. Neben den LGK existieren noch sternähnliche Gebilde, die sich aus einem LF in der *Lamina propria mucosae* und darüber liegenden mononukleären Zellen zusammensetzen. Da in den LGK alle Zelltypen gefunden werden können, die auch in den PP auftreten, gehen HEEL et al. (1997) von der gleichen Funktion aus.

#### 2.2.5 Involution

CARLENS (1928) beobachtete bei seiner umfangreichen Arbeit über das LG des Darmkanals einiger Haustiere, dass dieses in unterschiedlichen Altersstadien verschieden entwickelt ist. Er fasste die auftretenden Veränderungen unter dem Begriff "Altersinvolution" zusammen und führte Untersuchungen darüber durch. Danach kommt es im Zuge der Altersinvolution im gesamten Darm zu einer starken Abnahme des LG, mit einer Atrophie des zugehörigen Bindegewebes. Der Rückgang ist bei Herbivoren bedeutend stärker ausgeprägt, als bei Omnivoren (CARLENS 1928).

#### 2.2.5.1 Involution der *Peyer'schen-Platten*

Bei der Involution der PP des Dünndarms existieren Unterschiede zwischen der IPP und den JPP, die sich aus den unterschiedlichen Funktionen beider Typen ergeben. Untersuchungen lassen vermuten, dass die IPP als ein primäres lymphatisches Organ angesehen werden kann, welches u.a. für die Entwicklung des B-Zell Repertoire verantwortlich ist. Die Platten des Jejunums dagegen übernehmen eine zentrale Rolle in der Aufnahme von Antigenen aus dem Darmlumen und der Induktion lokaler Immunantworten (REYNOLDS und MORRIS 1983, 1984; LANDSVERK et al. 1991; REYNOLDS et al. 1991; GRIEBEL und HEIN 1996; MUTWIRI et al. 1999; YASUDA et al. 2002). Diese Funktion der JPP wird während der gesamten Lebensspanne der Tiere aufrechterhalten (GRIEBEL und HEIN 1996; YASUDA et al. 2006a, 2006b). CARLENS (1928), LANDSVERK (1981b) und REYNOLDS und MORRIS (1983) stellten in ihren Untersuchungen fest, dass beide Typen im Laufe der Involution nie vollständig verschwinden, sondern immer ein unterschiedlich großer Anteil an SF der PP bestehen bleibt. Die PP sind bei jungen Tieren gut entwickelt und zeigen sich als über die Schleimhautoberfläche erhabene Gebilde, wodurch sie mit bloßem Auge gut zu erkennen sind. Mit zunehmendem Alter werden die PP niedriger, bis sie schließlich nur noch als Einsenkungen in der Darmschleimhaut auftreten (CARLENS 1928). Mittels Bestimmung des Verhältnisses aus den Massen des LG und des Dünndarms zeigte CARLENS (1928), dass die maximale Entwicklung der IPP beim Rind in einem Alter von sechs bis 12 Mo erreicht ist. Für die übrigen PP des Dünndarms liegt dieses Alter bei 18 bis 24 Mo (CARLENS 1928). Die Altersinvolution des LG setzt beim Rind im Alter von 18 bis 24 Mo, d.h. zur Zeit der Geschlechtsreife, ein und beginnt immer im Bereich der IPP (CARLEN 1928; REYNOLDS und MORRIS 1983; PABST et al. 1988). Die Reduktion der IPP ist deutlich wahrzunehmen, da diese ca. 60% der Gesamtmenge des LG des Darms ausmacht (CARLENS 1928; LIEBLER-TENORIO 1985) und am Ende nur einige wenige SF übrig bleiben (CARLENS 1928; REYNOLDS und MORRIS 1983, 1984). Bei über zwei Jahre alten Rindern ist die IPP makroskopisch nicht mehr zu erkennen (CARLENS 1928). Auch das LG der JPP unterliegt nach CARLENS (1928) einer Reduktion, die etwas später als bei der IPP einsetzt und nicht so ausgeprägt in Erscheinung tritt (REYNOLDS und MORRIS 1983, 1984). Infolgedessen sind PP vereinzelt auch noch bei adulten Tieren im Jejunum nachweisbar (LIE et al. 2005).

### 2.2.5.2 Involution der Solitärfollikel und des lymphatischen Gewebes des Dickdarms

SF treten individuell verschieden zahlreich auf. Sie sind beim jungen Tier sehr spärlich, beim adulten Rind dagegen, vor allem im kaudalen Teil des Ileums, massiv vorhanden (CARLENS 1928). Ursache für diese scheinbare Zunahme der SF im Alter ist die Involution der PP. Wie oben erwähnt bildet sich das LG der PP nicht vollständig zurück, sondern es bleiben einzelne SF der PP bestehen. Die nicht von den PP abstammenden SF müssen nach CARLENS (1928) ebenfalls einer Altersinvolution unterliegen, da sie bei den alten Tieren bedeutend kleiner und spärlicher vorhanden sind. Dass eine Altersinvolution des LG des Dickdarms stattfindet, konnte von CARLENS (1928) beobachtet werden, der aufgrund der gewaltigen Ausdehnung des Darmabschnittes aber keine ausführlicheren Untersuchungen dazu vorgenommen hat. Die Reduktion betrifft die Fortsetzung der IZP im Zäkum, sowie die LGK (CARLENS 1928). Wie schon für die IPP festgestellt, beginnt die Reduktion dieser Platte mit dem Einsetzen der Geschlechtsreife. Bei älteren Tieren sind an dieser Stelle nur noch SF zu finden (CARLENS 1928). Die Involution der LGK scheint zeitlich etwas später als die der PP einzusetzen. Sie bleiben dabei zu jeder Zeit als solche erkennbar, d.h. auch sie werden nicht vollständig zurückgebildet (CARLENS 1928).

## 2.3 Der Naturdarm

Naturdärme erfreuen sich bei den Verbrauchern nach wie vor einer großen Beliebtheit. Hier zeigt sich der allgegenwärtige Trend zu naturbelassenen Produkten, die vom Verbraucher als qualitativ hochwertig und zugleich umweltfreundlich eingeschätzt werden. Als Nebenprodukte fallen die Naturdärme bei jeder Schlachtung an und müssen nicht künstlich hergestellt werden. Die unterschiedlichen Darmsorten können für die Produktion des gesamten Wurstsortiments, das in Deutschland mit über 1500 Sorten (Deutscher Fleischer-Verband (DFV) 2009; Zentralverband Naturdarm (ZVN) 2009a) einzigartig in seiner Vielfalt ist, eingesetzt werden. Verwendet werden überwiegend hochwertige Schweine-, Schafs- und Rinderdärme sowie in geringen Mengen auch Ziegendärme. Jeder dieser Naturdärme bringt bestimmte Eigenschaften mit, die für die Herstellung des reichhaltigen Sortiments von Vorteil und bei regionalen Spezialitäten zum Teil unentbehrlich sind. So dürfen z.B. Thüringer, Nürnberger und Münchner Weißwurst ausschließlich im



Naturdarm angeboten werden (ZNV 2009b). Als Wursthülle wird der Naturdarm seit über 2000 Jahren genutzt. Er stellt somit die älteste bekannte Umhüllung für Wurstprodukte dar (WIJNKER et al. 2006; ZVN 2009b). Über die Hälfte der in Deutschland hergestellten Wurstprodukte werden in einen Naturdarm abgefüllt (ZVN 2009b). Obwohl auch künstlich angefertigte Hüllen für die Wurstproduktion zur Verfügung stehen, verwenden viele Hersteller gerade für ihre Spitzenprodukte bewusst Naturdärme, um hiermit die handwerkliche Tradition und Kompetenz zu demonstrieren (ZVN 2009b). Entwickelt wurden Kunstdärme, als die Naturdarmproduktion die steigende Nachfrage nicht mehr decken konnte. Sie können aus Kollagen, Plastik oder Zellulose bestehen. Der Pro-Kopf-Verbrauch an Wurst befindet sich in Deutschland aufgrund der Vielfalt des Wurstsortiments und der hohen Qualität der Ware seit Jahren auf einem gleichbleibend hohen Niveau. Im Jahr 2007 wurden in Deutschland insgesamt 2,548 Millionen Tonnen Fleischerzeugnisse (Wurst und sonstige Fleischerzeugnisse) verzehrt (GURRATH 2008). Daraus ergibt sich in diesem Jahr ein Pro-Kopf-Verbrauch an Fleischerzeugnissen von durchschnittlich 31 kg. Dabei ist das Brühwurstsortiment mit einem Anteil von 14,2 kg die verkaufstärkste Produktgruppe. Unter diese Produktgruppe fallen mit 6,8 kg pro Jahr auch die in Deutschland sehr beliebten Würstchen. Der durchschnittliche Verzehr an Rohwürsten pro Jahr liegt bei rund 5,3 kg, für Kochwürste wird ein Wert von 2,8 kg angegeben (DVF 2009). Die Erzeugnisgruppen der Brüh-, Roh- und Kochwürste wurden 2006 im Wert von rund 5,74 Milliarden Euro produziert (GURRATH 2008). Da sich das LG über den gesamten Darm verteilt, wurde zum vorbeugenden Schutz der Verbraucher gegen die übertragbaren spongiformen Enzephalopathien nicht nur das potentiell infektiöse Ileum, sondern alle Abschnitte des Darmes (Duodenum bis Rektum, einschließlich Mesenterium) als SRM eingestuft (ANON. 2000b; ANON. 2001). Der Rinderdarm muss somit nach der fleischhygienerechtlichen Untersuchung separat entsorgt werden und steht der Fleischwirtschaft für die Produktion von natürlichen Wursthüllen nicht mehr zur Verfügung.



### 2.3.1 Die Gewinnung und Bearbeitung

Die Verarbeitung der Därme, die für die Produktion von Naturdärmen zum Einsatz kommen, beginnt unmittelbar nach der fleischhygienerechtlichen Untersuchung. Dabei dürfen nach der fleischhygienerechtlichen Untersuchung ausschließlich genusstauglich beurteilte Därme, die von genusstauglich beurteilten Tieren stammen, gewonnen und weiterverarbeitet werden (ANON. 2004). Im unmittelbaren Anschluss an die Beurteilung muss die Entleerung und Reinigung der Därme erfolgen. Dieses erfolgt idealerweise in einem abgetrennten Raum, um Kontaminationen zu vermeiden. Steht kein separater Raum zur Verfügung, können, mit behördlicher Genehmigung, alle Arbeitsgänge zeitlich getrennt im gleichen Raum durchgeführt werden (ANON. 2004). Nach der Bearbeitung der Därme müssen diese gesalzen, erhitzt oder getrocknet werden (ANON. 2004). Zudem sind geeignete Vorkehrungen zur Verhinderung einer Rekontaminierung zu treffen (ANON. 2004). Durch die sofortige Reinigung der Därme wird der Darminhalt, mit den darin befindlichen pathogenen und apathogenen Mikroorganismen (HOUBEN 2005), beseitigt und so ein schädlicher Einfluss bei der Herstellung der Wursterzeugnisse verhindert (ZVN 2002). Neben dem Darminhalt wird, je nach Tierart, eine unterschiedliche Anzahl an Darmschichten bei der nachfolgenden Bearbeitung entfernt. Der strukturelle Darmwandaufbau weist nach LIEBICH (1999) bei den verschiedenen Tierarten einen gleichartigen Grundbauplan aus einzelnen Gewebeschichten auf. Die Wand besteht von innen nach außen aus *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis*, *Tela subserosa* und *Tunica serosa* (LIEBICH 1999). Abbildung 2 zeigt alle Wand-schichten des Dünndarmes.

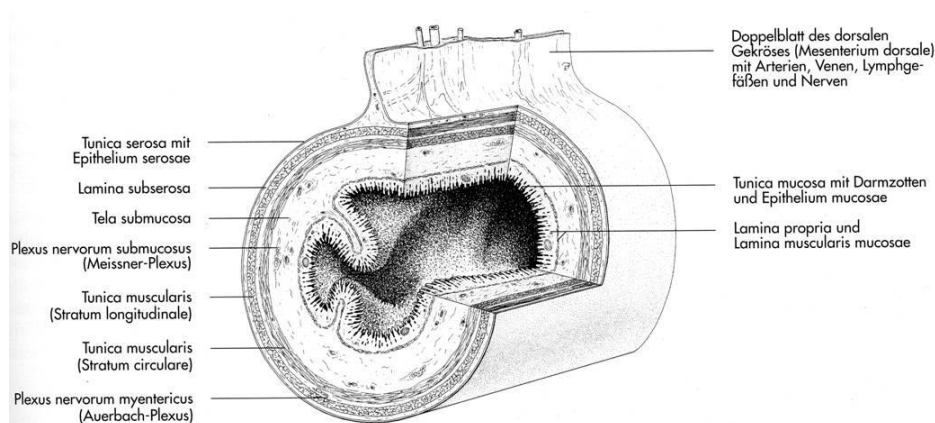


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Schichten des Darmrohrs (LIEBICH 1999)

Beim Rinderdünndarm wird durch die Reinigung nur die *Tunica mucosa* entfernt (VOIGT 1939; BEESKOW 1950; PRÄNDL et al. 1988), die restlichen Schichten bilden den Naturdarm. Die Säuberung der Därme kann manuell oder maschinell, am gewendeten oder nicht gewendeten Darm erfolgen. In einer Studie verglich KOOLMEES (2004) die Reinigungseffizienz der manuellen und maschinellen Bearbeitung von Schafdärmen. Es konnten dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Methoden festgestellt werden (KOOLMEES 2004).

#### 2.3.1.1 Manuelle Bearbeitung

Bis die ersten Darmschleimmaschinen bei der Erzeugung der Naturdärme zum Einsatz kamen, wurden die bei der Schlachtung anfallenden Därme von Hand bearbeitet. Heutzutage wird die manuelle Bearbeitung z.T. noch bei Hausschlachtungen oder bei Direktvermarktern angewendet. Für die Bearbeitung der Naturdärme gilt der Grundsatz, dass sie spätestens innerhalb von 24 Stunden entfettet, geschleimt, gebündelt und gesalzen werden müssen (KOCH und FUCHS 2004). Nach der fleischhygienerechtlichen Untersuchung der Rinderdärme wird zunächst der Mastdarm entfernt. Danach wird der Darm „abgefettet“, d.h. vom Gekröse abgetrennt (BEESKOW 1950). Eine gründliche Arbeitsweise verhindert, dass Reste des Darmfettes am Naturdarm verbleiben. Dies ist sehr wichtig, da Fett leicht ranzig wird und sich der unangenehme Geschmack über die Wursthülle auf das Wurstgut übertragen könnte (KOCH und FUCHS 2004). Der in den Darmabschnitten befindliche Kot wird in Richtung der beiden Enden und in Richtung Mitte gestrichen. In der Mitte wird er durch einen Längsschnitt an der Außenseite herausgelassen. (VOIGT 1939; BEESKOW 1950). Das Schleimen erfolgt bei Rinderdärmen im gewendeten Zustand (BEESKOW 1950; SCHMIDT 1968; PRÄNDL et al. 1988). Die Bearbeitung geschieht im Allgemeinen mit einem Schleimholz (VOIGT 1939). Die anhaftende Schleimschicht ist nach dem Umkehren leicht mit einem Schleimholz zu entfernen (BEESKOW 1950). Beim Schleimen von Hand darf nicht zu großer Druck ausgeübt und nicht in zu langen Zügen geschleimt werden. Beides würde zur Bildung von dünnen Stellen oder Löchern führen (SCHMIDT 1968). Um die Elastizität der Därme beim Schleimen zu erhöhen, wird mit warmem Wasser gearbeitet (BEESKOW 1950; SCHMIDT 1968). Damit der Darm vollkommen sauber ist, wird dieser zwei- bis dreimal, pro Abschnitt, geschleimt (VOIGT 1939; BEESKOW 1950).

Im Anschluss werden die gereinigten Därme erneut gespült und vor der Konservierung gewässert. Durch das Wässern werden die Därme gekühlt und ein evtl. anhaftender unangenehmer Geruch abgeschwächt. Därme, die nicht innerhalb der nächsten Tage verarbeitet werden, müssen konserviert werden. Gewöhnlich werden sie dazu gesalzen, in selteneren Fällen auch getrocknet (SCHMIDT 1968; BEUTLING 2004, WIJNKER 2009).

#### 2.3.1.2 Maschinelle Bearbeitung

Die kommerzielle Bearbeitung der Rinderdärme wird auf dem Schlachthof ausschließlich maschinell durchgeführt. Nur so können die anfallenden Mengen bewältigt werden. Die Vorteile gegenüber der manuellen Bearbeitung sieht VOIGT (1939) in der Einsparung von Personal, Bearbeitungszeit und der Reduzierung von Darmabfällen, da die Gefahr des Zerreißen nicht mehr besteht. Obwohl verschiedene maschinelle Reinigungssysteme für die Gewinnung der Rindernaturdärme existieren, ist das Grundprinzip der verwendeten Darmbearbeitungsmaschinen immer dasselbe. Unterschiede gibt es lediglich beim Grad der Automatisierung (WIJNKER et al. 2008). Für die maschinelle Bearbeitung werden die Därme zunächst vom Magen und Gekröse abgetrennt. Der Dünndarm wird ca. 1 bis 2 m vor der Einmündung in das Zäkum vom Dickdarm abgetrennt (KOOLMEES 1998; WIJNKER et al. 2008). Der kaudale Teil des Dünndarms ist von reichlich Fett- und Bindegewebe umhüllt, so dass nach KOOLMEES (1998) und WIJNKER (2009) ein Herauslösen des letzten Dünndarmabschnitts zu aufwendig wäre. Bei der Standardgewinnung wird dieses Darmstück somit nicht zur Produktion der Wursthüllen verwendet (KOOLMEES 1998; WIJNKER 2009). Die vorbereiteten Därme werden manuell der Darmbearbeitungsmaschine zugeführt und in der ganzen Länge durch die, sich gegeneinander drehenden, Rollen gewalzt. Die Darmbearbeitungsmaschinen bestehen im Allgemeinen aus einer unterschiedlichen Anzahl an hintereinander angeordneten Einzelmaschinen. Hierbei kommen automatische Korausstreifer, Entfettungs- und Entschleimungsmaschinen zum Einsatz. Mit Hilfe dieser Maschinen erfolgt die Entfernung des Kotes, des Fettgewebes und der Schleimhaut (KOOLMEES 1998). Bei der maschinellen Bearbeitung werden die Därme nach der Kotentleerung manuell gewendet und in diesem Zustand weiterverarbeitet. Der gereinigte Darm

wird mehrmals durchgespült, mit Hilfe von kaltem Wasser gekühlt und abschließend in einer Salzlake bis zur weiteren Verarbeitung konserviert (WIJNKER et al. 2008).

### 2.3.2 Einsatzmöglichkeiten

Vom Rind stammende Naturdärme werden für die Produktion verschiedenster Wurstsorten benötigt. Natürliche Wursthüllen werden üblicherweise aus folgenden Abschnitten des Rinderdarmes gewonnen: Duodenum und Jejunum (Kranzdarm), Zäkum (Butte, Kappe), Kolon (Mitteldarm), Rektum (Fettende, Schlacke) (PRÄNDL et al. 1988). In den folgenden Tabellen wird eine Übersicht über die vom Rind verwendeten Abschnitte des Magen-Darm-Kanals für Brühwürste (Tab.4), Rohwürste (Tab.5) und Kochwürste (Tab.6) gegeben (PRÄNDL et al. 1988; Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse).

Tabelle 4: Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Brühwürsten  
(nach PRÄNDL et al. 1988; Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse)

Abschnitt	Bearbeitung	Bezeichnung	Verwendung (Bsp.)
Dünndarm (Duodenum, Jejunum)	gewendet, ohne Schleimhaut	Kranzdarm	Fleischwurst, Lyoner, Krakauer
Blinddarm und Übergang zum Grimmdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Butte (Kappe)	Schinkenwurst, Mortadella, Bierschinken
Grimmdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Mitteldarm	Schinkenwurst, Gelbwurst, Kochsalami

Tabelle 5: Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Rohwürsten  
(PRÄNDL et al. 1988; Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse)

Abschnitt	Bearbeitung	Bezeichnung	Verwendung (Bsp.)
Dünndarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Kranzdarm	Mettwurst, Schmierwurst
Grimmdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Mitteldarm	verschiedene Salamiarten
Mastdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Fettende, Schlacke	Cervelatwurst, Schlackwurst

Tabelle 6: Natürliche Wursthüllen vom Rind für die Herstellung von Kochwürsten  
(PRÄNDL et al. 1988; Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse)

Abschnitt	Bearbeitung	Bezeichnung	Verwendung (Bsp.)
Dünndarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Kranzdarm	Leber- und Blutwurst
Blinddarm und Übergang zum Grimmdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Butte (Kappe)	Berliner Zungenwurst, Filetrotwurst
Grimmdarm	gewendet, ohne Schleimhaut	Mitteldarm	Leber- und Blutwurst

### 2.3.3 Wirtschaftliche Bedeutung

Die Naturdarmbranche stellt in Deutschland einen bedeutenden Wirtschaftsfaktor dar (ZVN 2008). Nach den Angaben des statistischen Bundesamts ist der Gesamtaußenhandelsumsatz der deutschen Naturdarmbranche in den vergangenen Jahren kontinuierlich gestiegen und beträgt für den Zeitraum zwischen 1996 bis 2006 pro Jahr durchschnittlich 548 Millionen Euro. Von diesem Gesamtumsatz entfallen auf den Import 324 Millionen und auf den Export 224 Millionen Euro. Insgesamt zeigt sich ein kontinuierlicher Rückgang der Importmenge von ca. 65.000 Tonnen im Jahre 1996 auf 52.000 Tonnen im Jahre 2006. Dagegen konnte die Exportmenge stetig von 46.000 Tonnen 1996 auf 79.000 Tonnen 2006 gesteigert werden. Die Steigerung der Exportmenge konnte durch eine entsprechende Zunahme der Naturdarmproduktion (Schweine- und Schafsdärme) in Deutschland realisiert werden. Hier ist ein Anstieg der Produktionsmenge um das 2,5-fache zu verzeichnen.

Derzeit werden jährlich ca. 100.000 Tonnen Naturdärme in Deutschland produziert (Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, 28.05.2007 und 13.08.2007). Bis zum Jahre 2000 wurde der Darm des Rindes in Deutschland zur Herstellung von Naturdärmen auf dem Schlachthof gewonnen und weiterverarbeitet. Mit dem in Kraft treten der gemeinschaftlichen Regelungen zum vorbeugenden Schutz der Verbraucher gegen die übertragbaren spongiformen Enzephalopathien wurde der gesamte Rinderdarm zum SRM erklärt (ANON. 2000b; ANON. 2001). Der Darm des Rindes muss gesondert entsorgt werden und steht somit der Fleischwirtschaft für die Naturdarm- und Wurstproduktion nicht mehr zur Verfügung. Nach Angaben des ZVN (ZVN, Hamburg, 21.08. 2007) entstehen in Deutschland durch die getrennte Entsorgung

und Beseitigung jährlich Kosten in Höhe von rund 20 Millionen Euro. Des Weiteren schätzt der ZVN (2007) den Verlust, der durch den Wegfall des Verkaufes der Därme an die Darmbearbeitungsbetriebe entsteht, auf rund 17 Millionen Euro (ZVN, Hamburg, 21.08. 2007). Der heutige Bedarf an Naturdärmen vom Rind zur Herstellung verschiedener Wurstsorten wird ausschließlich durch Importe aus Drittländern mit einem vernachlässigbaren BSE-Risikostatus gedeckt. Um die Nachfrage für die einheimische Wurstproduktion an Rindernaturdärmen decken zu können, werden jährlich ca. 12.000 bis 14.000 Tonnen Rinderdärme importiert. Das entspricht einem Wert von 23 bis 40 Millionen Euro (ZVN, Hamburg, 21.08. 2007).

## 2.4 Die Risikoanalyse

Risikoanalysen sind in der EU seit 01.01.2006 ein wichtiger Bestandteil des neuen Lebensmittelhygienerechts. Auf diese Weise soll ein hohes Maß an Schutz für Leben und Gesundheit der Menschen sichergestellt werden. Von den Mitgliedstaaten und der Gemeinschaft werden Maßnahmen zum Schutz der Verbraucher vor Gefahren, die von Lebens- und Futtermitteln ausgehen, erlassen. Die ergriffenen Maßnahmen sollen, wo erforderlich, auf einer Risikoanalyse basieren, damit effektiv und angemessen auf eine Gefährdung reagiert werden kann (ANON. 2002a; HEESCHEN 2008). Die Grundsätze der Risikoanalyse wurden von der Kommission des *Codex Alimentarius*, der Weltgesundheitsorganisation und der Welternährungsorganisation erarbeitet und vollständig in die neuen Lebensmittelhygieneregelungen der EU übernommen (BREIDENBACH et al. 2004; HEESCHEN 2008). Die Risikoanalyse ist nach KOËTER (2004) ein Prozess zur Kontrolle von Situationen, in denen für einen Organismus, ein System oder eine (Sub-)Population die Möglichkeit einer Gefahrenexposition besteht. Sie setzt sich immer aus den drei miteinander in Wechselwirkung stehenden Bereichen Risikobewertung, Risikomanagement und Risikokommunikation zusammen (ANON. 2002a; KOËTER 2004; HILDEBRAND 2004; HEESCHEN 2008). Da innerhalb einer Risikoanalyse die Risikobewertung und das Risikomanagement grundsätzlich getrennt sein sollen, sind in Deutschland zwei Institutionen eingerichtet worden. Die Aufgaben der Risikobewertung und Risikokommunikation nimmt das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wahr, das Risikomanagement obliegt dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (NAU et al. 2003; HEESCHEN 2008). Auf europäischer Ebene wurde für die



Bereiche Risikobewertung und Risikokommunikation eigens die EFSA geschaffen (ANON. 2002a; HEESCHEN 2008). Die EFSA unterstützt die Europäische Kommission (EC), indem sie wissenschaftliche Gutachten erstellt, welche als Grundlage für die Ausarbeitung und den Erlass von Gemeinschaftsmaßnahmen dienen (ANON. 2002a).

#### 2.4.1 Risikobewertung

Risikobewertungen sind auf der Basis der neuesten wissenschaftlichen Erkenntnisse durchzuführen und umfassen die vier Stufen der Gefahrenidentifizierung, Gefahrencharakterisierung, Expositionsabschätzung und Risikocharakterisierung (ANON. 2002a; KOËTER 2004; HILDEBRAND 2004; BfR 2007; HEESCHEN 2008). Als Gefahr wird ein biologisches, chemisches oder physikalisches Agens in einem Lebens- oder Futtermittel oder ein Zustand eines Lebens- oder Futtermittels, dessen Eigenschaften eine Gesundheitsbeeinträchtigung verursachen kann, angesehen (ANON. 2002a; BfR 2005). Wird im Rahmen der Gefahrenidentifizierung ein bestimmtes Agens als potentiell gefährlich für den Menschen erkannt, folgt die Ermittlung von Typ und Art der beeinträchtigenden Wirkung, die das Agens aufgrund seiner inhärenten Eigenschaften hervorrufen kann (KOËTER 2004; HILDEBRAND 2004). Ist die Gefahr identifiziert, wird in der nächsten Stufe, der Gefahrencharakterisierung, der Zusammenhang zwischen der Menge des Agens sowie der Häufigkeit des Vorkommens und dem Ausmaß der Gesundheitsschäden näher beschrieben. Hierbei sollte möglichst auch eine Beurteilung der Dosis-Wirkungs-Beziehung und der damit verbundenen Unsicherheiten vorgenommen werden (KOËTER 2004; HILDEBRAND 2004; BfR 2007). Die Expositionsabschätzung basiert auf der Betrachtung der exponierten Bevölkerungsgruppe, den Verzehrdaten bestimmter Lebensmittel sowie den Informationen zum qualitativen und quantitativen Vorkommen des Agens in den Lebensmitteln. Auch die Dauer und die Häufigkeit der Exposition sind hierbei zu beachten (HILDEBRAND 2004; BfR 2007).

Die Risikocharakterisierung kombiniert die Daten und Informationen aus den vorangegangenen Schritten, um das gesundheitliche Risiko für den Menschen qualitativ und wenn möglich auch quantitativ zu kalkulieren. Dabei werden je nach Wissensstand Angaben zu Wahrscheinlichkeit, Häufigkeit und Schwere der bekannten oder potentiell negativen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit

bei verschiedenen Bedingungen der Exposition gemacht. In die Auswertung müssen alle, bei der Risikobewertung, aufgetretenen Unsicherheiten mit einbezogen werden (HILDEBRAND 2004; KOËTER 2004). Das Gemeinschaftsrecht definiert das „Risiko“ als Funktion der Wahrscheinlichkeit einer die Gesundheit beeinträchtigenden Wirkung und der Schwere dieser Wirkung als Folge der Realisierung einer Gefahr definiert (ANON. 2002a; HILDEBRAND 2004). Das Risiko kann in Worten (qualitative Risikoanalyse) oder als numerischer Wert (quantitative Risikoanalyse) ermittelt werden (BREIDENBACH et al. 2004). Das Ziel einer Risikobewertung wird immer die Reduzierung des Risikos, aufgrund einer bestehenden Gefahr, auf ein akzeptables Maß sein. Daher resultiert die erstellte Risikobewertung normalerweise in Vorschlägen für das Risikomanagement (OBERTHÜR et al. 2001).

#### 2.4.1.1 BSE-Risikobewertung

Die Bewertung des Risikos, das von der BSE-Erkrankung für Mensch und Tier ausgeht, sehen COMER und HUNTLY (2003) als einen wichtigen Bestandteil der BSE-Bekämpfungsstrategien an. Nachdem WELLS et al. (1987) BSE erstmalig bei Rindern beschrieben hatten und ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten der vCJD und der BSE gezeigt worden war (BRUCE et al. 1997; HILL et al. 1997a; BROWN et al. 2003), wurden Risikobewertungen durchgeführt, um das potentielle humane Expositionsrisiko gegenüber dem BSE-Agens einschätzen zu können (COMER und HUNTLY 2003). So existieren Untersuchungen zu einer möglichen Kontaminierung des Schlachthofabwassers mit PrP (GALE et al. 1998; DE MOTES et al. 2008), zur Sicherheit pharmazeutischer und kosmetischer Produkte, welche Materialien vom Rind enthalten (BADER et al. 1998; GROBBEN et al. 2005; 2006) und zur Bestimmung des Erregergehaltes boviner Materialien, welche in die Nahrungsmittelkette gelangen könnten (SSC 1999; COMER und HUNTLY 2004; EFSA 2005b).

##### 2.4.1.1.1 Quantifizierende Risikobewertung des humanen BSE-Expositionsrisikos

Auf die Berechnungen zur quantifizierenden Risikobewertung haben nach dem SSC (2003) und der EFSA (2005b) verschiedene Größen Einfluss. Hierzu zählen z.B. die Speziesbarriere, die Wahrscheinlichkeit, mit der ein BSE-positives Rind zur



Produktion von Lebensmitteln verwendet wird, die Wege, auf denen die potentiell infektiösen bovinen Gewebe in die Nahrungsmittelkette gelangen können und ob während des Herstellungsprozesses eine Reduktion der Infektiosität zu erwarten ist. Weiterhin sind Kenntnisse über die Menge und Verteilung des BSE-Agens in den verschiedenen bovinen Materialien erforderlich. Eine weitere wesentliche Eingangsgröße für eine Risikobewertung ist die Masse des in die Nahrungsmittelkette eingebrachten potentiell infektiösen Materials (SSC 2003; EFSA 2005b). Auf der Grundlage der verfügbaren Daten hat der SSC (1997, 2002) die Verteilung der Infektiosität in den verschiedenen bovinen Materialien und eine Übersicht der gesamten Infektiosität bei einem klinisch an BSE erkrankten Rind erarbeitet (SSC 1998, 1999). In die Veröffentlichungen des SSC flossen auch die Ergebnisse der experimentellen Studien zur Pathogenese der BSE von WELLS et al. (1998) mit ein. Tabelle 7 zeigt eine Zusammenstellung der gesamten Infektiosität bei einem klinischen BSE-Fall, welche vom SSC 1999 herausgegeben wurde (SSC 1999). In ähnlicher Form ist die Auflistung über die Gesamtinfektiosität bei einem voll infizierten BSE-Rind auch in weiteren Quellen (SSC 1998; COMER und HUNTLY 2004, EFSA 2005b) zu finden.

Tabelle 7: Gesamte Infektiosität bei einem BSE-Fall (SSC 1999)

Gewebe	Infektionsdichte (bolD <sub>50</sub> /g)	Masse (kg) pro 537kg Tier	ID <sub>50</sub> pro BSE- Fall (bolD <sub>50</sub> )	bolD <sub>50</sub> pro Tier (%)	Kumulativ (%)
Gehirn	10	0,5	5000	64,1	64,1
Rückenmark	10	0,2	2000	25,6	89,7
Trigeminusganglien	10	0,02	200	2,6	92,3
dorsale Wurzelganglien	10	0,03	300	3,8	96,1
Ileum	0,32	0,8	260	3,3	99,4
Milz*	0,32	0,8	26	0,3	99,7
Augen	0,32	0,1	3	0,04	99,74

bolD<sub>50</sub> - bovine orale Infektionsdosis

\* experimentell keine Infektiosität bei BSE nachgewiesen

In dieser Auflistung sind an der Gesamtinfektiosität bei einem BSE-Fall das Ileum mit 3,3% und das ZNS sowie das periphere Nervensystem mit 96% beteiligt. Die in Tabelle 7 angeführten Infektionsdichten wurden auf der Grundlage der Pathogenesestudie von WELLS et al. (1998) festgelegt (SSC 1999). Für die in Tabelle 7 mit

aufgeführten Milz konnte bislang keine BSE-Infektiosität nachgewiesen werden (SOMERVILLE et al. 1997; SSC 2002; BUSCHMANN und GROSCHUP 2005; HOFFMANN et al. 2007), weshalb sie in die nachfolgenden Bewertungen nicht mehr mit einbezogen wurde. Tabelle 8 zeigt die Quantitative Risikobewertung nach COMER und HUNTLY (2004), in der aufgrund einer höheren Infektionsdichte auf das Ileum 9,6% der Gesamtinfektiosität entfällt. Basis für die höheren Infektionsdichten in der Risikobewertung von COMER und HUNTLY (2004) sind die „attack rate“ Studien (COMER und HUNTLY 2004).

Tabelle 8: Quantitative Risikobewertung nach COMER und HUNTLY (2004), Gesamte Infektiosität bei einem BSE-Fall

<b>Tissue</b>	<b>Infectivity (ID<sub>50</sub>/g)</b>	<b>Weight (g) per Animal</b>	<b>ID<sub>50</sub> per Animal</b>	<b>% of total infective load per Animal</b>
Brain	50	500	25000	60,2
Spinal	50	200	10000	24,1
Dorsal Root Ganglia	50	30	1500	3,6
Trigeminal Ganglia	50	20	1000	2,4
Tonsil	0,05	50	0,25	0
Distal Ileum	5	800	4000	9,6
Total		1600	41500	

ID<sub>50</sub>: bovine orale infektiöse Dosis

Über die Infektiosität des bovinen Knochenmarks sind in der Literatur verschiedene Angaben zu finden. Es ist sowohl unter den Materialien mit einer geringen (SSC 1997), als auch bei denen ohne nachweisbare Infektiosität zu finden (SSC 2002). Daten von oral experimentell infizierten Rindern (WELLS et al. 1999) zeigen Infektiosität ausschließlich im sternalen Knochenmark eines Rindes 38 Mo nach der Infektion (p.i.). Dabei wird vom Autor auch eine Kontamination der positiv getesteten Proben in Betracht gezogen. Untersuchungen der aktuellen Pathogenesestudie des Instituts für neue und neuartige Tierseuchenerreger des Friedrich-Loeffler-Institutes auf der Insel Riems (HOFFMANN et al. 2007) konnten in den bisher analysierten Knochenmarksproben keine Infektiosität nachweisen. Auch bei natürlich mit BSE infizierten Rindern konnten WELLS et al. (1999) für das Knochenmark bisher keine Infektiosität zeigen. Infektiös waren dagegen die Tonsillen oral experimentell infizierter Rinder (SSC 2002; BARTZ 2003; WELLS 2005; ESPINOSA 2007). Da der

Titer in diesem Gewebe sehr gering ist, geht die EFSA (2004) nicht von einer zusätzlichen Erhöhung des humanen BSE-Expositionsrisikos aus. In allen bisherigen Publikationen über die BSE-Gewebeinfektiosität und Studien zur quantitativen Risikobewertung werden für die bovinen Gewebe die gleichen Gewichtsangaben zugrunde gelegt (SSC 1998, 1999; COMER und HUNTLY 2004, EFSA 2005b).

#### 2.4.1.1.2 BSE-Risiko durch Rinderdärme

Nachdem wissenschaftliche Untersuchungen Infektiosität im distalen Ileum bei BSE-infizierten Rindern zeigten (WELLS et al. 1994, 1998; BUSCHMANN und GROSCHUP 2005), wurde zum vorbeugenden Schutz der Verbraucher der gesamte Darm des Rindes als SRM eingestuft (ANON. 2001). Keine Studie konnte bisher Infektiosität in einem anderen Darmabschnitt bei natürlich infizierten Rindern nachweisen (TERRY et al. 2003; BUSCHMANN und GROSCHUP 2005; IWATA 2006). In Studien, bei denen die Rinder oral mit BSE infiziert und untersucht wurden, konnte bisher nur bei einem Tier PrP<sup>Sc</sup> im LG des Jejunums gefunden werden (EFSA 2009). Das Rind stammte aus der Gruppe, die mit 100g infektiösen Hirnmaterial infiziert wurden.

Im Gegensatz zum Rind zählt bei den kleinen Wiederkäuern nach VO (EG) Nr. 999/2001 (ANON. 2001) nur das infektiöse Ileum (VAN KEULEN et al. 1996; SSC 2002) zu den SRM, die restlichen Darmabschnitte dürfen als Naturdärme in den Verkehr gebracht werden. Eine Grundlage für diese Entscheidung stellt eine histologische Studie von KOOLMEES et al. (2004) dar, die den Naturdarm des Schafes auf das Vorhandensein von PP untersuchten und die keine PP in den bearbeiteten Naturdärmen mehr finden konnten. Vergleichbare quantitativ histologische Untersuchungen am Rinderdarm sind kürzlich vom Institut für wissenschaftliche Risikobewertung (Institute for Risk Assessment Sciences) und der Abteilung für Tiergesundheit der Universität von Utrecht (Department of Farm Animal Health of Utrecht University) durchgeführt worden (WIJNKER et al. 2008). WIJNKER et al. (2008) schlossen aus ihren Ergebnissen, dass durch kommerziell gewonnene Wursthüllen kein messbares BSE-Risiko für die Verbraucher ausgeht. Im Jahr 2005 veröffentlichte die EC einen „Fahrplan für die TSE-Bekämpfung“ (EC 2005) mit wünschenswerten kurz-, mittel- und langfristigen Änderungen der Maßnahmen zur Bekämpfung der BSE-Erkrankung, bei gleichbleibend hohem Standard bezüglich

Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz. Angesichts der rückläufigen BSE-Fallzahlen innerhalb der EU, neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse und der enormen wirtschaftlichen Kosten, sollen schrittweise die Auflistung und/oder die Altersgrenzen für SRM reduziert werden. Bereits 2005 hatte die EFSA anlässlich einer Stellungnahme zu den Altersgrenzen für SRM festgestellt (EFSA 2005b), dass derzeit keine neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse vorlägen, um den Status von Rinderdärmen zu ändern. Angesichts der vorgelegten Studie von WIJNKER et al. (2008) hat die EC im Sinne der in dem „TSE Roadmap“ und der in der VO (EG) Nr. 178/2002 (ANON. 2002a) aufgezeigten Strategien die EFSA gebeten, die Daten aus der Studie zu evaluieren und gegebenenfalls das von Rinderdärmen für den Verbraucher ausgehende BSE-Risiko neu zu bewerten. In ihrer Stellungnahme hielt die EFSA (2007) die vorgelegten Ergebnisse nicht für ausreichend, um eine Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen durchzuführen, die somit weiterhin zum SRM zählen (ANON. 2001).

#### 2.4.2 Risikomanagement

Die vom ersten BSE-Fall im November 2000 ausgelöste Krise führte in Deutschland zu einer Neuorganisation des gesundheitlichen Verbraucherschutzes. Um das Ziel einer verbesserten Transparenz des staatlichen Handelns zu erreichen, sollten Risiken im gesundheitlichen Verbraucherschutz von unterschiedlichen Institutionen bewertet und gemanagt werden. Im Zuge der Neuorganisation wurde 2002 das BVL als Behörde für das Risikomanagement in Deutschland geschaffen. Dadurch sollte der Verbraucherschutz gestärkt und die Zusammenarbeit zwischen Bund, Ländern und der EU verbessert werden (BVL 2009). Nach der VO (EG) Nr. 178/2002 (ANON. 2002a) erarbeitet das Risikomanagement unter Konsultation der Beteiligten und Berücksichtigung der Ergebnisse der Risikobewertung adäquate Maßnahmen, um die allgemeinen Ziele des Lebensmittelrechts gemäß Artikel 5 zu erreichen. Wo notwendig werden geeignete Präventions- und Kontrollmöglichkeiten diskutiert. Die Entscheidungen des Risikomanagements basieren dabei normalerweise auf den Ergebnissen und Vorschlägen der Risikobewertung (HEIM und KIHM 2003). Neben der wissenschaftlichen Risikobewertung sind dabei auch andere, für den jeweils zu prüfenden Sachverhalt relevante Faktoren wie gesellschaftliche, wirtschaftliche und ethische Gesichtspunkte aber auch die Frage der Kontrollierbarkeit zu berücksichti-

gen (ANON. 2002a). Das Risikomanagement überwacht zudem die Umsetzung der getroffenen Maßnahmen (HEIM und KIHLMANN 2003; HÖRNLIMANN 2006d). Können die Risiken durch diese Maßnahmen nicht im gewünschten Umfang reduziert werden, muss die Strategie zur Verminderung des Risikos überdacht werden. Dies ist auch erforderlich, wenn sich die Erkenntnisse oder die äußeren Bedingungen ändern. Ob die ergriffenen Maßnahmen wirksam sind, kann erst nach Ablauf der durchschnittlichen IP abgeschätzt werden. Deshalb ist es nötig, die Maßnahmen auf Grundlage der gesammelten Erfahrungen und neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse ständig zu korrigieren und zu aktualisieren (HEIM und KIHLMANN 2003; HÖRNLIMANN 2006d). Häufig ist dazu eine Überarbeitung der Risikobewertung nötig, welche durch das Risikomanagement veranlasst werden (BREIDENBACH et al. 2004). Angesichts des Ausmaßes der gesundheitlichen Gefährdung von Menschen durch bestimmte TSE sind seit 1990 eine Reihe von spezifischen Vorschriften zu deren Verhütung, Kontrolle und Tilgung in der Gemeinschaft erlassen worden (ANON. 2001). Aus verschiedenen Gründen ist es notwendig, den Erreger aus der Nahrungsmittelkette fernzuhalten und so den Verbraucher vor einer BSE-Infektion zu schützen. Zu diesen Gründen zählt das BfR (2006) u.a. die unbekannte minimale Infektionsdosis für den Menschen, das fehlende Wissen über die kumulative Wirkung kleiner Ergerdosen, die nicht ausreichende Vernichtung des Erregers bei küchentechnischer Zubereitung, die hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber den herkömmlichen Desinfektionsverfahren und ein stets tödlicher Krankheitsverlauf ohne erfolgreiche Vorbeuge- bzw. Therapiemöglichkeiten.

Im Folgenden sollen die wichtigsten Maßnahmen zur Bekämpfung der BSE-Erkrankung und zur Reduzierung des humanen BSE-Risikos innerhalb der EU erläutert werden.

#### 2.4.2.1 Überwachungsmaßnahmen

Ein wichtiges Ziel des Überwachungssystems ist die Erfassung wissenschaftlicher Daten zur Ermittlung der BSE-Inzidenzen. Nur so sind Aussagen über die Verbreitung und den zeitlichen Verlauf der BSE möglich (HÖRNLIMANN 2006d). Die Untersuchung von Rindern mit neurologischen Erscheinungen zur Aufdeckung von BSE-Erkrankungen wird als passive Überwachung bezeichnet. Erst mit der Entwicklung und Zulassung von Schnelltests konnte auch eine aktive Überwachung,

durch Untersuchung der Gehirne, durchgeführt werden (BMELV 2005; HÖRNLIMANN 2006d). Mit der Einführung der aktiven Überwachung wurden erste BSE-Fälle auch in langjährig als BSE-frei geltenden Ländern nachgewiesen und die Inzidenz in Ländern mit BSE stieg rapide an (HEIM und KIHLM 2003). Sind 2001 durch die passive Überwachung noch 51% der positiven BSE-Fälle aufgedeckt worden (EC 2001), waren es 2006 noch 10%, so dass mit der aktiven Überwachung 90% der positiven BSE-Fälle gefunden wurden (EC 2006). Eine Kombination der passiven und aktiven Überwachungssysteme ermöglicht somit BSE-positive Tiere aus der Nahrungs- und Futtermittelkette auszuschließen. Die Pflicht zur Durchführung der aktiven und passiven Überwachung sowie die jährliche Veröffentlichung der Ergebnisse ist im Gemeinschaftsrecht verankert (ANON. 2001).

#### 2.4.2.1.1 Passive Überwachung

Die passive Überwachung basiert nach HEIM und KIHLM (2003) auf der Erkennung und anschließenden Untersuchung klinisch verdächtiger Tiere. Kenntnisse der Symptome, bei mit lebenden Rindern umgehenden Berufsgruppen, sind eine Grundvoraussetzung dafür, dass BSE-Verdächtige erkannt und unverzüglich den zuständigen Veterinärbehörden gemeldet werden können (HEIM und KIHLM 2003; HÖRNLIMANN 2006d). Die tatsächliche Inzidenz der BSE wird durch die passive Überwachung allein jedoch unterschätzt, so dass v.a. am Beginn der BSE-Epidemie die Dunkelziffer der BSE-Fälle wahrscheinlich deutlich über den veröffentlichten Zahlen lag. Häufig sind die Rinder vor dem Auftreten der klinischen Symptome geschlachtet worden bzw. die Symptome des Anfangsstadiums wurden anderen Rindererkrankungen zugeordnet (HEIM und KIHLM 2003). In den meisten Mitgliedstaaten der EU wurde zwischen 1988 und 1994 die Anzeigepflicht für sämtliche Formen der TSE eingeführt. Dabei hängt die Bereitschaft, verdächtige Rinder anzuzeigen, von verschiedenen Gegebenheiten ab. Unverhältnismäßige Maßnahmen, die nicht auf wissenschaftlichen Daten beruhen, fehlende Ausgleichszahlungen für getötete Tiere oder der drohende Verlust der Existenzgrundlage führen oft zu einer verminderten Bereitschaft verdächtige Tiere zu melden (HEIM und KIHLM 2003). Ergeben sich bei der passiven Überwachung BSE-verdächtige Fälle, müssen die Tiere zur gezielten Untersuchung, auf das Vorliegen der Erkrankung getötet und die

entsprechenden Proben dem zuständigen nationalen Referenzlabor zugeleitet werden (ANON. 2001; HÖRNLIMANN 2006d).

#### 2.4.2.1.2 Aktive Überwachung

Mit Hilfe der aktiven Überwachung ist es möglich, flächendeckend und in spezifischen Risikogruppen zu untersuchen und so einen großen Anteil der präklinischen bzw. atypischen BSE Fälle zu erkennen (HÖRNLIMANN 2006d). Seit 1999 ist es durch Schnelltestverfahren möglich, Rinder post mortem auf BSE zu untersuchen (MOYNAGH und SCHIMMEL 1999). Durch die gezielte Untersuchung der Gehirne mittels Schnelltests können auch Rinder mit BSE, die keine typische Symptomatik aufweisen, entdeckt werden (HÖRNLIMANN 2006d). Jedoch gelingt der Nachweis infizierter Tiere erst in der letzten Phase der IP, da nur dort die Erregerkonzentration ausreichend hoch ist. Tiere mit niedrigerer Konzentration des Erregers im ZNS, die aber mit BSE infiziert sind, bleiben womöglich unerkannt (BfR 2003; HEIM und KIHM 2003). Bis zur Tilgung der BSE ist daher immer damit zu rechnen, dass BSE-infizierte Rinder unerkannt in die Nahrungs- und Futtermittelkette gelangen (BfR 2006). Seit dem 1. Januar 2001 müssen innerhalb der EU BSE-Schnelltests, im Rahmen der epidemiologischen Überwachung, bei Rindern durchgeführt werden (ANON. 2001). Zu diesen Tieren gehören verendete und aus besonderem Anlass not- oder krankgeschlachtete Rinder. Tiere, die bei der ante mortem Inspektion Auffälligkeiten zeigten, im Zusammenhang mit einem BSE-Fall getötet wurden und gesunde Schlachttiere werden ebenfalls mittels Schnelltest untersucht (ANON. 2001; BMELV 2005). Anfang 2009 wurde in 15 Mitgliedstaaten das BSE-Testalter für Schlachtrinder, angesichts der deutlich rückläufigen BSE-Fallzahlen, auf 48 Mo heraufgesetzt. Dies gilt jedoch ausschließlich für den nationalen Rinderbestand des betreffenden Mitgliedstaats (ANON. 2008). Schlachtrinder, die aus anderen EU-Mitgliedsländern importiert worden sind, müssen weiterhin ab einem Lebensalter von 30 Mo auf BSE getestet werden. Als BSE-verdächtig gelten Rinder, bei denen ein spezifischer BSE-Schnelltest positiv war (ANON. 2001). Ein Tier gilt als BSE-positiv, wenn das Ergebnis des Schnelltests positiv oder nicht eindeutig ist und das Ergebnis der anschließenden histopathologischen oder immunhistochemischen Untersuchung im nationalen Referenzlabor positiv ist (ANON. 2001; HEIM und KIHM 2003). BSE-verdächtige Tiere oder Tiere, bei denen das Vorliegen einer BSE-Erkrankung amtlich



bestätigt wurde, werden gemäß der VO (EG) Nr. 1774/2002 (ANON. 2002b) als Material der Kategorie 1 gekennzeichnet und unschädlich beseitigt.

#### 2.4.2.2 Verfütterungsverbote

Futterstoffe tierischer Herkunft fallen als Nebenprodukte bei der Nutztierhaltung und der Gewinnung von Lebensmitteln an. Das hergestellte MBM ist ein Gemisch aus Schlachtabfällen, beanstandeten Organen und Tierkörpern verendeter oder getöteter Tiere (PRANGE 2005). Nach heutigem Wissensstand erfolgte die Übertragung des BSE-Erregers auf Rinder wahrscheinlich durch die Verfütterung inadäquat behandeltem MBM (WILESMITH et al. 1988; SSC 2003). Nachdem man das MBM als mögliche Hauptinfektionsquelle der BSE erkannt hatte, wurde 1994 in der EU zunächst die Verfütterung von, aus Säugetieren hergestelltem, MBM an Wiederkäuer verboten (ANON. 1994). Obwohl in Deutschland die Einmischung von MBM in Rinderfutter keine Bedeutung hatte, war eine Kreuzkontamination des Rinderfutters bei der Mischfutterherstellung, -lagerung und dem Transport möglich (OBERTHÜR et al. 2001; PRANGE 2005). Dies war ein Grund dafür, dass trotz Verfütterungsverbot die Anzahl der BSE-Fälle weiterhin stieg (HÖRNLIMANN et al. 2006d). Zwar gelangten durch die Kontamination nur geringe Mengen des Erregers in das Rinderfutter, Untersuchungen zeigten aber, dass weniger als ein Gramm BSE-infektiöses Hirnmaterial genügt, um die BSE-Erkrankung bei Rindern oral auszulösen (EFSA 2005b; HÖRNLIMANN et al. 2006d; WELLS et al. 2007). Da eine Kreuzkontamination nicht sicher ausgeschlossen werden konnte (SSC 2000), wurde Anfang 2001 das totale Verfütterungsverbot durchgesetzt (HEIM und KHIM 2003). Demzufolge durfte an alle landwirtschaftlichen Nutztiere kein tierisches Protein, inklusive MBM und Blutmehl, mehr verfüttert werden (ANON. 2000a). Das Verbot, tierisches Protein an Wiederkäuer zu verfüttern, wurde als Dauerregelung in die VO (EG) Nr. 999/2001 (ANON. 2001) übernommen. Erlaubt ist die Verfütterung von Milch und Milcherzeugnissen, Kolostrum, Eiern und Eierzeugnissen, aus Nichtwiederkäuern gewonnene Gelatine und hydrolysierte Proteine aus Nichtwiederkäuern sowie Wiederkäuerhäuten und Wiederkäuerfellen. Unter der Einhaltung strenger Sicherheitsauflagen ist es zudem möglich, Fischmehl an noch nicht abgesetzte Nutzwiederkäuer zu verfüttern (ANON. 2001). Das Verfütterungsverbot stellt die wichtigste Maßnahme zur Eliminierung der BSE aus der Rinderpopulation



(SELHORST et al. 2005), bei gleichzeitiger Verhinderung des BSE-Eintrags in die Population, dar (BMELV 2005).

#### 2.4.2.3 Spezifizierte Risikomaterialien

Die Verteilung der Infektiosität in den Geweben und Körperflüssigkeiten der durch BSE infizierten Rinder ist ausgesprochen heterogen (siehe Tab. 7, S.46). Sie ist im Infektionsverlauf variabel und erscheint noch stärker auf das ZNS fokussiert als bei anderen TSE (WELLS et al. 1994, 1998; SSC 2002; BUSCHMANN und GROSCHUP 2005; ZIEGLER et al. 2006; HOFFMANN et al. 2007; ARNOLD et al. 2007). Die Möglichkeit, dass an BSE erkrankte Tiere unerkannt in die Nahrungsmittelkette gelangen, stellt ein potentiell Risiko für den Verbraucher dar. Aus diesem Grund werden Gewebe mit hoher Infektiosität als spezifizierte Risikomaterialien aus der Nahrungsmittelkette entfernt (ANON. 2001). Die Entnahme und Beseitigung dieser Gewebe bei der Schlachtung führt zu einer deutlichen Verringerung der potentiellen Exposition des Verbrauchers gegenüber dem BSE-Agens (SSC 1999; BfR 2003). Die Zuordnung von Geweben zu den Risikomaterialien ist davon abhängig, ob und wann Infektiosität im Verlauf einer BSE-Infektion nachgewiesen werden kann. Die Festlegung des Alters für die Entfernung basiert auf dem frühesten Zeitpunkt, erweitert um eine Sicherheitsspanne, an dem Infektiosität nachweisbar ist (BgVV 2001). Um die betreffenden Risikomaterialien identifizieren zu können, sind Studien über die Pathogenese der BSE erforderlich. Da anfangs keine Untersuchungsergebnisse aus Studien der BSE-Pathogenese beim Rind zur Verfügung standen, stützte man sich nach HEIM und KHIM (2003) bei der Definition der bovinen Risikomaterialien auf Erkenntnisse über Scrapie beim Schaf. In Folge der wissenschaftlichen Erfassung der BSE-Infektiosität bei Rindern und der darauf basierenden Risikobewertung kam es immer wieder zu Änderungen der Definition der bovinen SRM. In der EU kam es wiederholt zu Verzögerungen bei der rechtlichen Umsetzung bezüglich Entnahme und Beseitigung der BSE-Risikomaterialien (HEIM und KHIM 2003; LÜCKER 2006, 2009). Bereits 1996 empfahl der Wissenschaftliche Veterinärausschuss in einer Stellungnahme Gehirn, Rückenmark und Augen von über 12 Mo alten Rindern aus der Nahrungs- und Futtermittelkette auszuschließen (ANON. 2000b). Der SSC (1997) regte 1997 eine Erweiterung dieser Liste an. Es wurde empfohlen die Dura mater, Hypophyse, Schädel, Spinalganglien, Wirbelsäule, Darm,

Mandeln und Lunge den zu beseitigenden bovinen Materialien hinzuzufügen (SSC 1997). Die erste rechtliche Festlegung in der EU erfolgte 1997 mit der Entscheidung 97/534/EG (ANON. 1997). In Tabelle 9 sind die entsprechenden Materialien aufgeführt, die laut Entscheidung 97/534/EG (ANON. 1997) zu entfernen waren.

Tabelle 9: Rechtliche Spezifikation der Risikomaterialien bei Rindern in der EU seit 1997

Datum	Gesetz	Gewebe	Alter
1997	Entscheidung 97/534/EG	Schädel (inkl. Gehirn, Augen) Rückenmark Tonsillen	> 12 Monate
2000	Entscheidung 2000/418/EG	Schädel (inkl. Gehirn, Augen) Wirbelsäule (inkl. Rückenmark, Spinal- ganglien; exkl. Schwanzwirbel) Tonsillen	> 12 Monate
		Darm (von Duodenum bis Rektum)	alle Altersklassen
2001	VO (EG) Nr. 999/2001	Schädel (inkl. Gehirn, Augen; exkl. Unterkiefer) Rückenmark	>12 Monate
		Wirbelsäule (inkl. Spinalganglien; exkl. Schwanz- wirbel, Dorn- u. Querfortsätze der Hals- Brust- u. Lendenwirbel, Crista sacralis mediana, Kreuzbeinflügel)	> 30 Monate
		Tonsillen Darm (von Duodenum bis Rektum) Mesenterium	alle Altersklassen

Die Entscheidung 97/534/EG (ANON. 1997) wurde innerhalb der EU nie geltendes Recht (HEIM und KHIM 2003; LÜCKER 2006, 2009), obwohl sie ursprünglich am 01.01.1998 in Kraft treten sollte. Insgesamt wurde die Umsetzung dieser Regelung mehrfach über die Änderung des Datums ihres Inkrafttretens, bis zum Erlass der Entscheidung 2000/418/EG (ANON. 2000b), hinausgeschoben. Die Gründe für die verzögerte Umsetzung der EU-weiten SRM-Regelungen waren offensichtlich die bis zu diesem Zeitpunkt fehlenden Beweise für das eigenständige Vorkommen von BSE in vielen Mitgliedstaaten der EU, das verbreitete Fehlen etablierter Beseitigungssysteme und die erheblichen Kosten im Zusammenhang mit der gesonderten Entsorgung und Vernichtung von SRM durch Verbrennen (LÜCKER 2006). Erst ab Ende 2000 wurde auf Basis der Entscheidung 2000/418/EG (ANON. 2000b) die Entfernung und separate Beseitigung der SRM in der gesamten EU umgesetzt. Diese ist, gegenüber der Entscheidung 97/534/EG (ANON. 1997), erweitert worden und umfasst Schädel (inkl. Gehirn und Augen), Wirbelsäule (inkl. RM und Spinalganglien;

exkl. Schwanzwirbel), Tonsillen der Rinder ab 12 Mo und den Darm (Duodenum bis Rektum) aller Altersklassen (siehe Tab. 9, S. 55). Die Liste der Risikomaterialien ist in der Folgezeit ständig überprüft, ergänzt und 2001 in die VO (EG) Nr. 999/2001 (ANON. 2001) integriert worden (BMELV 2005). Die derzeit aktuellen bovinen SRM (Stand März 2010) sind in Tabelle 9 mit aufgeführt. Die definierten SRM müssen unmittelbar nach der Entnahme blau eingefärbt und gemäß der VO (EG) Nr. 1774/2002 (ANON. 2002b) beseitigt werden (ANON. 2001).

#### 2.4.3 Risikokommunikation

Die Risikokommunikation bildet ein wesentliches Element der Risikoanalyse und ist Voraussetzung für ein erfolgreiches Risikomanagement (BREIDENBACH et al. 2004). Demnach darf die Risikokommunikation nicht als ein von den beiden anderen Bereichen losgelöster Teil angesehen werden, sondern muss in die Durchführung der Risikoanalyse integriert werden (McCREA 2003). In Deutschland hat das BfR den gesetzlichen Auftrag zur Risikokommunikation (BfR 2008). Die Risikokommunikation "bezeichnet den interaktiven Austausch von Informationen und Meinungen über Gefahren und Risiken, risikobezogene Faktoren und Risikowahrnehmung zwischen Risikobewertern, Risikomanagern, Verbrauchern, Lebensmittel- und Futtermittelunternehmen, Wissenschaftlern und anderen interessierten Kreisen einschließlich der Erläuterung von Ergebnissen der Risikobewertung und der Grundlage für Risikomanagemententscheidungen" (ANON. 2002a). Zu den Aufgaben zählen somit eine sachlich fundierte Aufklärung über den Stand der wissenschaftlichen Forschung, die Abstimmung der Mitwirkenden untereinander, die Klärung der Standpunkte betroffener Interessengruppen sowie die Unterrichtung der Bevölkerung über mögliche Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln. Weiterhin gehört eine umfassende Information über die eingesetzten Verfahren zur Bewertung und Abwägung der Risiken sowie die Bereitstellung und Durchführung kommunikativer Verfahren, zur Beteiligung der Mitwirkenden an dem Prozess der Risikobewertung, dazu (HERTEL und HENSELER 2005). Vor allem die Kommunikation mit den Verbrauchern ist dabei sehr wichtig. Sie sollte offen, klar und transparent gestaltet werden, um die Akzeptanz der wissenschaftlich erhobenen Ergebnisse zu gewährleisten und das Verständnis für die zu ergreifenden Maßnahmen zu fördern (NAU et al. 2003; BREIDENBACH et al. 2004; HOFSTÄDTER und GROSSGUT 2006).

### **3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN**

Die vorliegende Arbeit umfasst die Gewichts- und Längenbestimmung der Ilea (3.1), die histologische Untersuchung von Jejunum- und Ileumabschnitten (3.2), die Kontrolle auf sichtbare PP im Dünndarm von Schlachtrindern (3.3) und die Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung der Därme (3.4). Im Folgenden werden die dafür verwendeten Materialien und die Methoden beschrieben.

#### **3.1 Gewichts- und Längenbestimmung der Ilea**

Um einen wissenschaftlich fundierten Wert für das Gewicht des bovinen Ileums im bearbeiteten Zustand zu erhalten, wurden die Ilea von Schlachtrindern entnommen und vor bzw. nach der manuellen Bearbeitung vermessen.

##### **3.1.1 Auswahl der Tiere**

Das Material für die Bestimmung des Gewichtes und der Länge der Ilea stammte aus einem Schlachtbetrieb in der Nähe von Leipzig. Die Untersuchung wurde bereits von Mitarbeitern des Institutes für Lebensmittelhygiene der Universität Leipzig im Jahr 2004 begonnen und von mir ab April 2005 fortgeführt. An insgesamt sieben verschiedenen Schlachttagen wurden im Durchschnitt 18 Ileumproben entnommen und bearbeitet. Insgesamt standen 129 Proben für die Untersuchung zur Verfügung. Die Auswahl der Tiere auf dem Schlachthof erfolgte vollständig randomisiert. Von den zufällig an der Schlachtstrecke ausgewählten Schlachttierkörpern wurde der dazugehörige Magen-Darm-Kanal zur Probenentnahme herangezogen. Über die Schlachtzahlen konnten für jedes der beprobten Rinder Rasse, Alter, Geschlecht und Schlachtendgewicht abgerufen und dokumentiert werden. Alle Rinder wurden im Rahmen einer Normalschlachtung geschlachtet, d.h. die Schlachttier- und Fleischuntersuchung verliefen ohne Beanstandungen.

### 3.1.2 Entnahme der Ilea

Die Entnahme der Ileumproben erfolgte im Darmraum („Kuttelei“) des Schlachthofes. Im alltäglichen Schlachtablauf werden im Anschluss an die fleischhygienerechtliche Untersuchung des Rinderdarmes und der Abtrennung der Därme vom Vormagensystem durch das Schlachthofpersonal, diese üblicherweise der fachgerechten Entsorgung zugeführt. Aus dem laufenden Schlachtbetrieb wurde jeweils ein Schlachttierkörper zufällig ausgewählt und der entsprechende Darm auf eine abgetrennte Arbeitsfläche gelenkt. Erst nachdem von einem Darm das Ileum entnommen und dieser wieder dem laufenden System der Entsorgung zugeleitet worden war, wurde der nächste Darm herausgegriffen und in der gleichen Art und Weise beprobt. Die Abgrenzung des Ileums auf dem Schlachthof erfolgte anhand der *Plica ileocaecalis*. Wie in Abbildung 3 zu sehen, wird die Ausdehnung des Ileums durch die *Plica ileocaecalis* bestimmt, einer Serosaduplikatur, die zwischen dem antimesenterialen Rand des Ileums und dem Zäkum verläuft. Die kraniale Abgrenzung des Ileums vom Rest des Dünndarmes erfolgte an Hand der *Plica ileocaecalis*. Kaudal wurde das Ileum dort abgetrennt, wo es mit dem *Ostium ileale* auf der Grenze zwischen Blinddarm- und Grimmdarm in den Dickdarm einmündet (DYCE et al. 1991; VOLLMERHAUS und ROOS 1999; SALOMON et al. 2005).

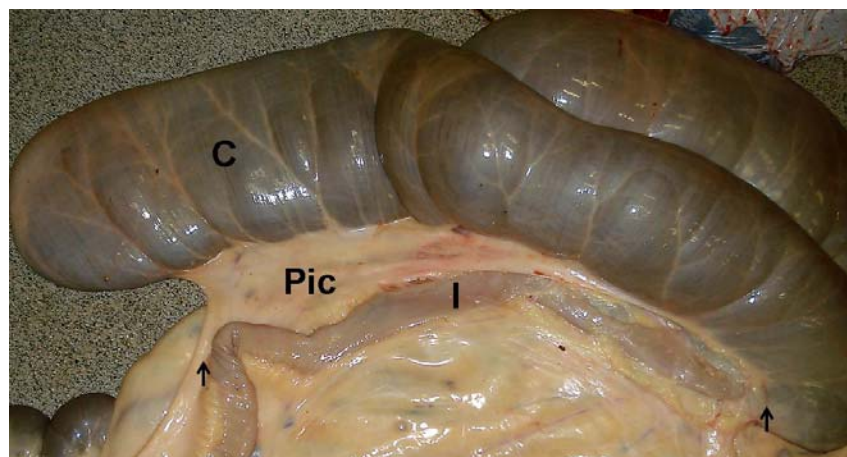


Abbildung 3: Darstellung der *Plica ileocaecalis* (Pic) zwischen Zäkum (C) und Ileum (I) gelegen, die Pfeile markieren die Länge des Ileums

Nachdem der letzte Dünndarmabschnitt vom Mesenterium gelöst und die Länge des Ileums durch die deutlich erkennbare *Plica ileocaecalis* identifiziert worden war, wurde das Ileum sowohl an der Grenze zwischen Jejunum und Ileum, als auch

zwischen Ileum und Zäkum abgebunden. Nach dem Durchtrennen des Darmrohres mit dem Messer wurde die *Plica ileocaecalis* so gründlich wie möglich entfernt. Die entnommenen Ilea wurden einzeln in kleine, mit fortlaufender Nummerierung versehene Tüten verpackt und die dazugehörige Schlachtnummer auf einer durchnummerierten Liste erfasst. Anhand der Schlachtzahl konnten die wichtigsten Daten der beprobten Rinder im Schlachthof abgerufen und dokumentiert werden. Erfasst wurden Rasse, Alter, Geschlecht und Schlachtengewicht der Tiere.

### 3.1.3 Bearbeitung der Ilea

Die weitere Bearbeitung der Ilea erfolgte am Tag der Entnahme im Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig. Die für die Darmbearbeitung angewandte Methode orientierte sich an den von BEESKOW (1950) und SCHMIDT (1968) beschriebenen Verfahren der Rinderdarmbearbeitung. Am Institut erfolgte zunächst die Bestimmung des Gewichtes und der Länge im unbearbeiteten Zustand. Im Anschluss an diese Datenerhebung wurde der Darminhalt ausgestrichen und die Ilea mit reichlich kaltem Wasser gründlich gespült. Ein kurzes Einweichen der Darmabschnitte im warmen Wasser ermöglichte eine bessere Beseitigung des anhaftenden Binde- und Fettgewebes. Zugleich erhöhte diese Prozedur die Elastizität der Darmproben und bewirkte so eine sorgfältigere Entfernung des Darmschleimes (SCHMIDT 1968). Für das manuelle Entschleimen der Rinderdünndärme wird üblicherweise ein Schleimholz verwendet, welches auch hier zum Einsatz kam. Das verwendete Schleimholz zeigt Abbildung 4.



Abbildung 4: Schleimholz, das für die Bearbeitung der Proben in der vorliegenden Studie verwendet wurde

Rinderdärme werden vor dem eigentlichen Schleimen gewendet, so dass die nur leicht anhaftende Schleimschicht außen liegt (VOIGT 1939; BEESKOW 1950; SCHMIDT 1968). Nachfolgend wurde das Schleimholz mehrmals hintereinander in

kurzen Zügen und mit gleichmäßigem Druck über die gesamte Länge des gewendeten Darmes gezogen. Eine mehrmalige Wiederholung dieses Arbeitsganges garantierte die komplette Beseitigung der erkennbaren Schleimhaut. Nach dem die Darmabschnitte erneut gewendet und ausgewaschen worden waren, erfolgte die Ermittlung des Gewichtes und der Länge im bearbeiteten Zustand.

#### 3.1.4 Bestimmung des Gewichtes und der Länge der Ilea

Vor der Bearbeitung der Proben erfolgte die Bestimmung des Gewichtes (Waage: Sartorius BP 610 der Firma Sartorius AG in Göttingen, Deutschland, ISO 9001,  $\pm 0,01\text{g}$ , max. Kapazität: 610g) und der Länge (Rollbandmaß Sola Tri - Matic 1 II EG der Firma ESSKA GmbH, Millimeter-Teilung, Länge: 3m) der Ilea im unbearbeiteten Zustand. Dazu wurde das Ileum zunächst, so wie auf dem Schlachthof entnommen, gewogen. Die Länge wurde am gerade auf den Präpariertisch ausgebreiteten Darmstück mit Hilfe des Maßbandes gemessen. Im Anschluss an die oben beschriebene Bearbeitung wurden die Proben mit der gleichen Waage abermals gewogen. Die Erfassung der Länge erfolgte erneut nach dem geraden Auslegen der Ilea mit dem Maßband. Die erhaltenen Gewichts- und Längendaten wurden in die, im Schlachthof begonnene, durchnummerierte Liste eingetragen und später in elektronischer Form gespeichert.

### 3.2 Histologische Untersuchungen

Es wurden histologische Schnitte aus verschiedenen Abschnitten des bovinen Ileums und Jejunums angefertigt und mikroskopisch untersucht. Damit sollte überprüft werden, ob durch die manuelle Bearbeitung die PP vollständig entfernt werden können oder ob Reste davon in den Naturdärmen verbleiben.

#### 3.2.1 Ileum

Die Ileumproben wurden auf dem Schlachthof entnommen und nach jeweils drei unterschiedlichen Bearbeitungsmethoden histologische Schnitte angefertigt. Nach Färbung der Schnitte wurden diese systematisch untersucht und die Ergebnisse dokumentiert.

### 3.2.1.1 Auswahl der Tiere

Die Ilea, welche für die histologische Untersuchung herangezogen wurden, stammten aus zwei verschiedenen Schlachtstätten. Die Probenentnahme erfolgte zu einem anderen Zeitpunkt als die für die Gewichts- und Längenbestimmung der Ilea. Dadurch konnten die Ilea entsprechend der jeweiligen Fragestellung optimal weiterbearbeitet werden. Auch in diesem Fall wurden die Rinder, von denen das Ileum entnommen wurde, zufällig aus dem laufenden Schlachtbetrieb ausgewählt. Die fleischhygienerechtliche Untersuchung der Tierkörper mit den dazugehörigen Nebenprodukten der Schlachtung verlief ohne Beanstandungen. Mit Hilfe der Schlachtzahlen der beprobten Rinder wurden die Angaben zu Rasse, Alter, und Geschlecht erfasst.

### 3.2.1.2 Entnahme der Ilea

Die Vorgehensweise zur Entnahme der Ilea für die histologische Untersuchung war identisch mit der unter Punkt 3.1.2 „Entnahme der Ilea für die Gewichts- und Längenbestimmung“ dargelegten Methode. Einzig die *Plica ileocaecalis* wurde nicht vollständig abgetrennt um später, wo notwendig, den antimesenterialen Rand zweifelsfrei erkennen zu können. Alle entnommenen Ilea wurden einer eingehenden makroskopisch-anatomisch Untersuchung unterzogen.

### 3.2.1.3 Bearbeitung der Ileumabschnitte

Die Vorbereitung der Ilea für die histologische Untersuchung erfolgte am Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig. Es kamen drei verschiedene Bearbeitungsmethoden zum Einsatz. Zunächst sollten die Proben im unbearbeiteten und bearbeiteten Zustand analysiert werden. Des Weiteren war vorgesehen, bei einigen Proben im gleichen Darmabschnitt geschleimte und ungeschleimte Areale zu präparieren, um einen direkten Vergleich zwischen beiden zu erhalten. Bei den nicht weiter zu bearbeitenden Ilea wurden lediglich die nach der Entnahme äußerlich noch erkennbaren Fett- und Bindegewebsreste entfernt und mit kaltem Wasser der Darminhalt sorgfältig ausgespült. Mit der Eröffnung der Ilea waren für diese Gruppe (Proben: I-03, I-05, I-06, I-09, I-11, I-13)



die Vorbereitungen abgeschlossen. Sämtliche Proben wurden auf der mesenterialen Seite eröffnet, damit die antimesenteriale Seite für die Untersuchung vollständig erhalten blieb. Die Behandlung der zu bearbeitenden Proben (Proben I-01, I-02, I-08, I-10) umfasste zunächst ebenfalls die Beseitigung des noch anhaftenden Fett- und Bindegewebes und das Auswaschen des Darminhaltes. Anschließend erfolgte das Schleimen gemäß der Bearbeitungsweise der Ilea für die Gewichts- und Längenbestimmung, welche unter Punkt 3.1.3 „Bearbeitung der Ilea“ beschrieben ist, sowie das Aufschneiden an der mesenterialen Seite. Um die Abschnitte mit den nebeneinander liegenden geschleimten und ungeschleimten Bereichen vorzubereiten, wurden diese, nach dem Entfernen des Fett- und Bindegewebes, dem Auswaschen und Eröffnen, auf einer Unterlage fixiert. Die anschließende Bearbeitung einer Hälfte des Darmabschnittes mit dem Schleimholz hatte zum Ziel, die sichtbare Schleimschicht zu entfernen. Wie auch bei den vollständig geschleimten Proben wurde dazu das Schleimholz vorsichtig über die Innenseite des Darmes gezogen. Diese Methode kam bei den Proben I-04, I-07 und I-12 zum Einsatz. Abbildung 5 zeigt eine nach diesem Verfahren vorbereitete Probe.

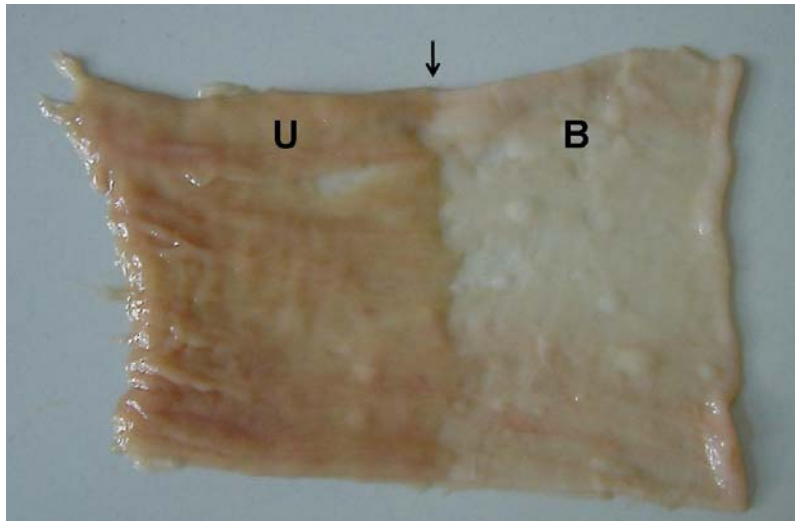


Abbildung 5: Darmabschnitt mit einem unbearbeiteten (U) und einem bearbeiteten (B) Areal, der Pfeil markiert die Grenze zwischen beiden Bereichen

Im Ileum drei sehr junger Tiere wurde in der makroskopischen Untersuchung das Vorliegen von PP vermutet. Von einem Ileum wurde deshalb aus dem distalen Stück eine unbearbeitete Probe entnommen (Probe I-09), das restliche Ileum bearbeitet und anschließend aus dem proximalen Stück eine weitere Probe entnommen (Probe I-08). Beim zweiten Ileum wurde in den drei Abschnitten jeweils eine der drei

Bearbeitungsmethoden angewandt. Proximal ein unbearbeitetes Stück, medial ein bearbeitetes Stück und distal beide Methoden nebeneinander. Aus allen drei Abschnitten wurde je ein Stück für die histologische Untersuchung herangezogen (Proben I-10, I-11 und I-12). Aus dem letzten Ileum wurde aus dem medialen Bereich eine unbearbeitete Probe für die histologische Untersuchung ausgewählt (I-13). Jede Ileumprobe wurde gründlich auf pathologisch-anatomische Veränderungen und auf das Vorkommen von makroskopisch sichtbaren PP untersucht.

#### 3.2.1.4 Vorbereitung und Anfertigung der Schnitte

Da die PP fast ausschließlich auf der antimesenterialen Seite des Dünndarms lokalisiert sind, wurden die Untersuchungen auf diesen Bereich konzentriert. Nur anfangs wurden einige Präparate vom gesamten Darmquerschnitt angefertigt. Um möglichst große Bereiche der jeweiligen Ileumabschnitte untersuchen zu können, kam eine spezielle Methode (Prof. Heinz-Adolf Schoon, Leipzig, 29.09.2005) zum Einsatz. Die unterschiedlich bearbeiteten Proben der Ilea wurden an der mesenterialen Seite aufgeschnitten und je nach Bedarf in drei gleich große Stücke unterteilt. Der proximale, mediane und distale Abschnitt des Ileums sollte bei den Proben getrennt voneinander untersucht werden. Aus diesen drei Unterabschnitten (proximal, median und distal) wurden verschieden lange Stücke, entlang des antimesenterialen Randes, heraus geschnitten und wie in Abbildung 6 dargestellt, um ein dünnes Holzstäbchen gewickelt. Die Fixierung der Proben erfolgte in 4%igem Formalin für mindestens 24 Stunden. Nach der Entfernung des Holzstäbchens wurde von jeder Probe ein 0,5 cm breites Stück für die nachfolgende Einbettung in Paraffin ausgewählt und heraus geschnitten (Abb. 6).

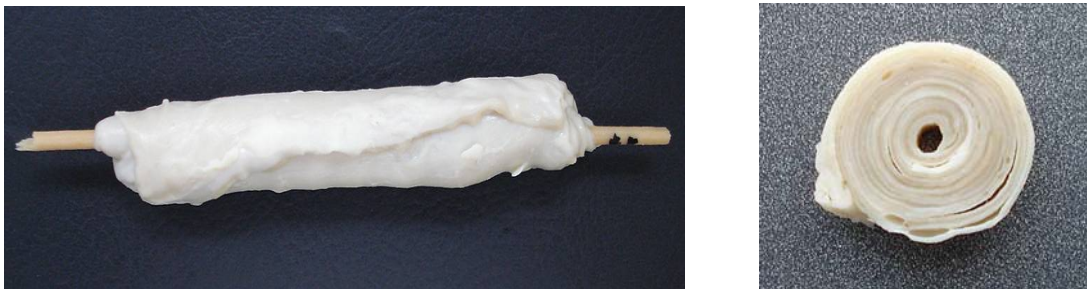


Abbildung 6: Auf ein Holzstäbchen gewickelter und in Formalin fixierter Ileumabschnitt (links) und eine aus dem fixierten Stück herausgeschnittene Probe (rechts).

Die Einbettung der in Formalin gelagerten Proben wurde von den Mitarbeiterinnen des Instituts für Veterinär-Pathologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig ausgeführt. Nach der Aushärtung des Paraffins wurden die Schnitte an einem Schlittenmikrotom (microTec CUT 4055 „medim“, Deutschland), welches das Veterinär-Pathologischen Institut zur Verfügung stellte, angefertigt. Die eingebetteten Stücke lagen vor dem Schneiden für mindestens fünf Minuten auf einer Kühlplatte. Anschließend sind pro Ileumabschnitt mindestens drei Schnitte mit einer Stärke von zwei Mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) angefertigt worden. Diese wurden in eine große Glasschale mit kaltem Wasser überführt. Von dort wurden sie auf beschriftete und mit Chromalaun-Gelantine beschichtete Objektträger (Firma Engelbrecht, Medizin- und Labortechnik GmbH, Deutschland) aufgezogen. Die Glättung der Schnitte erfolgte in 55° C warmen Wasser. Daran schloss sich eine erste Trocknung der Schnitte auf einer Streckplatte für zehn Minuten und hinterher eine weitere Trocknungsperiode im Wärmeschrank bei 60 °C für 30 Minuten an. Nach dem Abkühlen der Objektträger konnten die Schnitte in einen Färbeständer einsortiert und mit Hilfe eines Färbeautomaten (Firma Medite Medizintechnik, Tissue Strainer COT20, Deutschland) mit Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbt werden.

#### 3.2.1.5 Auswertung der Schnitte und Dokumentation

Die Untersuchung der Schnitte erfolgte nach der HE-Färbung mit Hilfe eines Lichtmikroskops (CH20 der Firma Olympus, Deutschland) unter Verwendung verschiedener Vergrößerungen (4-fach, 10-fach und 40-fach). Dabei wurde zunächst festgestellt, welche Schichten der Darmwand in der Übersichtsdarstellung noch vorhanden waren. In der anschließenden systematischen Durchmusterung der Präparate wurde ermittelt, ob LG bzw. Reste davon in den verschiedenen Bearbeitungsstufen vorkam. Wurden PP und/oder SF gefunden erfolgte die Bestimmung ihrer Lokalisation innerhalb der Darmwandschichten. Die bildliche Dokumentation der analysierten Schnitte wurde mit Hilfe eines digitalen Stereomikroskop-Kamera-Systems (SZX und Mikroskopkamera DP 71 der Firma Olympus) und dazugehöriger Verarbeitungssoftware (Life Science Dokumentation Software „Cell<sup>AD</sup>“) durchgeführt.

### 3.2.2 Jejunum

Die auf dem Schlachthof entnommenen Jejunumproben wurden in der gleichen Weise wie die Ilea bearbeitet. Nach der Anfertigung histologischer Schnitte wurden diese systematisch durchmustert und die Ergebnisse dokumentiert.

#### 3.2.2.1 Auswahl der Tiere

Die Entnahme der Proben aus dem Jejunum für die histologische Untersuchung erfolgte im ersten Schlachthof vom ersten, zehnten und 20zigsten Rind aus der laufenden Schlachtung. Im zweiten Schlachthof, mit einem sehr geringen Anteil an Schlachtrindern, wurde das zweite und dritte Tier beprobt.

#### 3.2.2.2 Entnahme der Jejuna

Von den Jejuna wurden einzelne Bereiche ausgewählt und nach dem beidseitigen Abbinden herausgeschnitten. Proben, die vor der Fixierung in Formalin nicht weiter bearbeitet wurden, umfassten lediglich kleinere Stücke mit und ohne erkennbare PP. Etwas längere Jejunumabschnitte waren dagegen erforderlich, wenn die Proben bearbeitet, d.h. geschleimt werden sollten. Nach der Entnahme erfolgte im Darmraum des Schlachthofes keine weitere Bearbeitung der Proben. Sie wurden lediglich in Zellophantüten verpackt und mit der dazugehörigen Schlachtnummer versehen. Mit Hilfe der Schlachtnummer wurde Alter, Geschlecht und Rasse der beprobten Rinder ermittelt und dokumentiert.

#### 3.2.2.3 Bearbeitung der Jejunumabschnitte

Die entnommenen Jejunumabschnitte wurden am Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig mit der unter Punkt 3.2.1.3 „Bearbeitung der Ileumabschnitte“ geschilderten Methode bearbeitet (J-02, J-05, J-06, J-08, J-10, J-11). Da in den Jejuna der untersuchten Schlachtrinder häufig PP vorkamen, konnten gezielt Proben mit PP bearbeitet werden. Ebenso wurden, wie in Abbildung 7 dargestellt, einige Abschnitte so präpariert, dass geschleimte und

ungeschleimte Areale nebeneinander lagen (J-03, J-07). Drei Jejunumproben wurden unbearbeitet für die histologische Untersuchung verwendet (J-01, J-04, J-09).

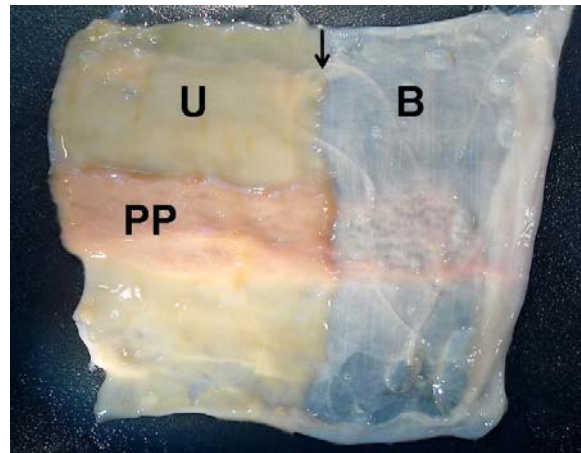


Abbildung 7: Probe mit einer *Peyer'scher-Platte* (PP), bei der ein bearbeitetes (B) und ein unbearbeitetes (U) Areal nebeneinander präpariert wurde, der Pfeil markiert markiert die Grenze zwischen den beiden Breichen

#### 3.2.2.4 Vorbereitung und Anfertigung der Schnitte

Die Eröffnung der Jejuna erfolgte auf der mesenterialen Seite, da die PP ausschließlich auf der antimesenterialen Seite lagen. Wie unter Punkt 3.2.1.4 „Vorbereitung für die histologische Untersuchung und Anfertigung der Schnitte“, ausführlich beschrieben, wurden die ausgewählten Stücke auf Holzstäbchen gewickelt und diese für 24 Stunden in 4%igem Formalin fixiert. Nach der Entfernung der Stäbchen sind kleine Stücke aus den fixierten Proben herausgeschnitten und in Paraffin eingebettet worden. Von diesen Blöcken erfolgte die Anfertigung der Schnitte an einem Schlittenmikrotom (microTec CUT 4055 „medim“, Deutschland) des Veterinär-Pathologischen Instituts und die HE-Färbung mittels Färbeautomaten (Firma Medite Medizintechnik, Tissue Strainer COT20, Deutschland). Pro Probe wurden so drei Schnitte mit einer Dicke von 2 µm angefertigt.

### 3.2.2.5 Auswertung der Schnitte und Dokumentation

Die Auswertung der Schnitte erfolgte unter Verwendung eines Lichtmikroskops (CH20 der Firma Olympus, Deutschland) bei verschiedenen Vergrößerungen (4-fach, 10-fach und 40-fach). Es wurden die verbliebenen Wandschichten, das Vorhandensein von LG sowie dessen Lokalisation innerhalb der Darmwandschichten analysiert. Die bildliche Dokumentation der Befunde erfolgte mit Hilfe des digitalen Stereomikroskop-Kamera-Systems (SZX und Mikroskopkamera DP 71 der Firma Olympus) und der dazugehörigen Verarbeitungssoftware (Life Science Dokumentation Software „Cell^D“).

### 3.3 Untersuchung auf *Peyer'sche-Platten*

Auf zwei Schlachthöfen in der Nähe von Leipzig wurde an jeweils einem Schlachttag der Dünndarm von 113 geschlachteten Rindern untersucht. Ziel war es, die Häufigkeit des Auftretens und die Lokalisation der PP im Dünndarm (Jejunum, Ileum) von Schlachtrindern zu überprüfen. Bisherige Arbeiten konzentrierten sich vorwiegend auf das Ileum bzw. das distale Ileum. Nur wenige Daten liegen für das bovine Jejunum vor. Die Untersuchung des Rinderdünndarms erfolgte bei laufendem Schlachtbetrieb im Darmraum des jeweiligen Schlachthofes. Im Wesentlichen wurde nur eine äußerliche Adspektion der Dünndärme vorgenommen. In Abbildung 8 ist zu sehen, dass die PP in den meisten Fällen als über die Oberfläche erhabene Gebilde leicht zu erkennen sind.



Abbildung 8 : *Peyer'sche-Platten* (PP) im Jejunum, die ohne eine Eröffnung der Därme von außen sehr gut erkennbar sind

Nur bei unklaren Befunden wurden die Därme eröffnet, um sicher beantworten zu können, ob es sich um PP handelt. Der Dünndarmabschnitt galt als positiv, sobald eine PP erkennbar war. Waren PP vorhanden wurde vermerkt in welchem Abschnitt des Dünndarmes diese lokalisiert waren. Aus organisatorischen Gründen konnte das Duodenum nicht mit in die Untersuchung einbezogen werden. Auch die Därme bei denen keine PP auftraten wurden dokumentiert, so dass später eine Aussage über die Verteilung der Häufigkeit getroffen werden konnte. Von allen untersuchten Rinden wurde über die Schlachtzahlen das Alter erfasst.

### **3.4 Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung**

Die Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung der Därme erfolge an 42 Jejunumabschnitten. Im Darmraum des Schlachthofes wurden von den ersten 20 Tieren eines Schlachttages zwei Abschnitte aus dem Jejunum entnommen und in Zellophanthüten, die mit den dazugehörigen Schlachtnummern gekennzeichnet waren, verpackt. Die Proben wurden am Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig in 1m lange Stücke geschnitten. Nach der vollständigen Entfernung des Mesenteriums wurde aus den Proben der Darminhalt vorsichtig ausgespült. Anschließend erfolgte die Bestimmung des Gewichts der unbearbeiteten Proben. Nach dem wenden wurden die Abschnitte mit Hilfe des Schleimholzes geschleimt bis die Mukosa vollständig entfernt war und das Gewicht der bearbeiteten Proben bestimmt. Es kam erneut die, unter Punkt 3.2.1.3 „Bearbeitung der Ileumabschnitte“ beschriebene, Bearbeitungsmethode zum Einsatz.



## 4 ERGEBNISSE

Für den ersten Teil der Arbeit wurden 129 Ilea von Schlachtrindern entnommen und von diesen, vor bzw. nach einer definierten Bearbeitungsmethode, Gewicht und Länge bestimmt worden. Im zweiten Teil erfolgte die histologische Untersuchung von 11 Jejunum- und 13 Ileumproben. Von diesen Proben sind vor und nach der Bearbeitung insgesamt 153 histologische Schnitte angefertigt und auf LG untersucht worden. Um Daten über die Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung zu erhalten, wurde das Gewicht von 42 Abschnitten aus dem Jejunum, jeweils vor und nach der Bearbeitung, bestimmt. Weiterhin wurden die Jejunua und Ilea von 113 Rindern bei laufendem Schlachtbetrieb auf sichtbare PP kontrolliert. Im Folgenden werden die gewonnenen Daten dargestellt und erläutert.

### 4.1 Gewicht und der Länge der Ilea

Auf dem Schlachthof wurden insgesamt 129 Ilea entnommen. Von jedem der beprobten Rinder wurde Geschlecht, Alter, Schlachtendgewicht und Rasse auf dem Schlachthof dokumentiert. Die dabei erfassten Daten sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Alter, Geschlecht, Schlachtendgewicht und Rasse der Rinder

Altersgruppe		Anzahl
Tiere < 24 Mo		69
Tiere > 24 Mo		60
Geschlecht		
weibliche Tiere		67
männliche Tiere		62
Schlachtendgewicht		
bis 99 kg		1
100 kg - 199 kg		7
200 kg - 299 kg		45
300 kg - 399 kg		57
400 kg - 499 kg		19
Rasse		
Deutsche Holstein Schwarzbunt	(SBT)	97
Fleckvieh	(FL)	15
Kreuzung Fleischrinder	(XFF)	7
sonstige Rassen bzw. Kreuzungen	(SON)	3
Fleisch Fleckvieh	(FLF)	2
Kreuzung Milchrinder	(XMM)	2
Deutsche Holstein Rotbunt	(RBT)	1
Kreuzung Fleisch- und Milchrinder	(XFM)	1
Highland	(HLD)	1

Aus Tabelle 9 wird ersichtlich, dass annähernd gleich viele weibliche (fe) wie männliche (ma) Tiere untersucht wurden. Es ist ein leichtes Überwiegen der Tiere unter 24 Mo sichtbar. Alle 62 männlichen Tiere sind, als Mastbullen, in dieser Altersgruppe zu finden. Bei der Gewichtsverteilung dominieren die Tiere aus den Gruppen mit einem Schlachtendgewicht von 300 bis 399 kg und 200 kg bis 299 kg. Mit einem Anteil von knapp 75% ist die Rasse Deutsche Holstein Schwarzbunt am häufigsten vertreten. Sie stellt eine der wichtigsten Rassen in Deutschland dar und wird auf hohe Milchleistung und gute Zuwachsleistung gezüchtet. An zweiter Stelle, mit knapp 12%, ist das Fleckvieh zu finden, ebenfalls ein Zweinutzungsrind mit hoher Milch- und Fleischleistung.

Die Ileumproben sind nach der Entnahme am Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät jeweils vor und nach der Bearbeitung vermessen und gewogen worden. Aus den Daten ergibt sich ein mittleres Gewicht des Ileums im unbearbeiteten Zustand ( $G_U$  (g)) von  $228,3g \pm 44,0$ , bei einer Spannweite von 89,9 bis 557,0g. Da das Ileum bei der Entnahme lediglich grob vom *Mesenterium* und der *Plica ileocaecalis* gelöst und sofort abgebunden wurde, setzt sich das Gewicht des unbehandelten Ileums aus dem Darmabschnitt mit Darminhalt und evtl. an der Darmwand anhaftenden Fett- und Bindegewebsresten zusammen. Die mittlere Länge der unbehandelten Ilea ( $L_U$  (cm)) beträgt  $45,4cm \pm 3,4$ , bei einer Spannweite von 27,0 bis 61,0 cm. Im behandelten Zustand ( $G_B$  (g)) wog das Ileum im Durchschnitt  $56,8g \pm 12,0$ , bei einer Spannweite von 23,1 bis 135,8g. Durch die Behandlung wurden Darminhalt, Mukosa, Fett- und Bindegewebsreste entfernt. Somit beinhaltet dieses Gewicht lediglich die noch verbliebenen Darmwandschichten. Die mittlere Länge der behandelten Ilea ( $L_B$  (cm)) beträgt  $69,2cm \pm 8,2$ , bei einer Spannweite von 35,0 bis 122,0 cm. Eine Zusammenstellung des Gewichtes und der Länge der Ilea vor und nach der Behandlung liefern Tabelle 11 und Abbildung 9.

Tabelle 11: Ergebnisse der Untersuchung des Gewichts und der Länge der unbearbeiteten und bearbeiteten Ilea

Ileum	$G_U(g)$	$L_U(cm)$	$G_B(g)$	$L_B(cm)$
Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	$228,3 \pm 44,0$	$45,4 \pm 3,4$	$56,8 \pm 12,0$	$69,2 \pm 8,2$
Minimum	89,9	27,0	23,1	35,0
Maximum	557,0	61,0	135,8	122,0

$G_U$ : Gewicht des unbehandelten Ileums;  $L_U$ : Länge des unbehandelten Ileums

$G_B$ : Gewicht des behandelten Ileums;  $L_B$ : Länge des behandelten Ileums

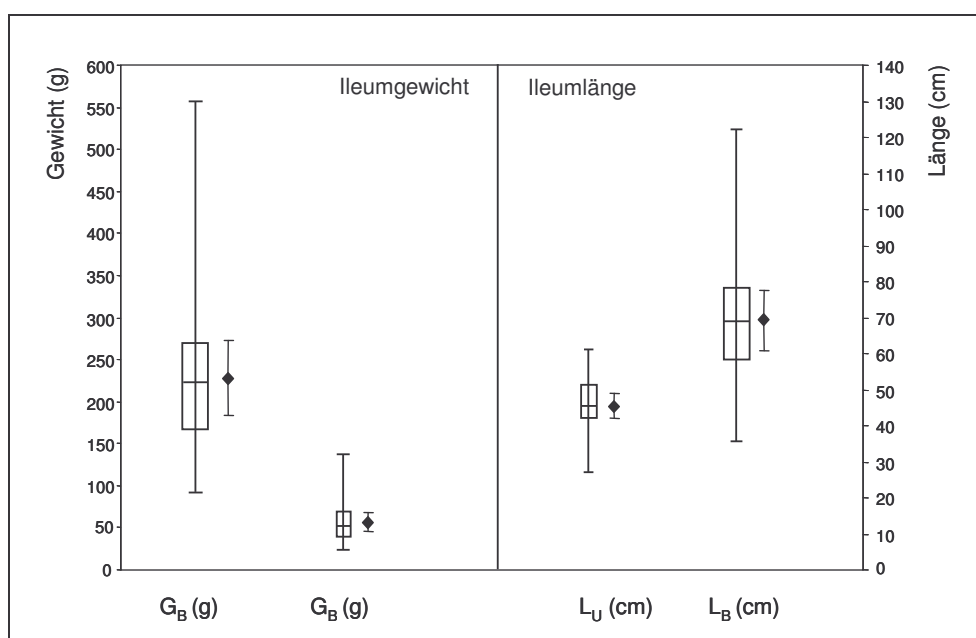


Abbildung 9: Box-Plot Darstellung des Gewichtes und die Länge der Ilea, vor und nach der Bearbeitung;  $G_U$ : Gewicht des unbehandelten Ileums;  $L_U$ : Länge des unbehandelten I-leums;  $G_B$ : Gewicht des behandelten Ileums;  $L_B$ : Länge des behandelten Ileums

Die 62 männlichen Tiere waren im Mittel 19 Mo alt, wogegen die 67 weiblichen Tiere, mit durchschnittlich 51 Mo, ein deutlich höheres Alter aufwiesen. In Tabelle 12 sind die Durchschnittswerte des Alters der Rinder und des Ileumgewichtes nach der Behandlung, für alle Rinder sowie getrennt nach dem Geschlecht, gegenübergestellt.

Tabelle 12: Vergleich der Mittelwerte für das Alter der Rinder und das Gewicht des behandelten Ileums. Die Werte sind für alle 129 Tiere sowie nach dem Geschlecht getrennt abgebildet.

Geschlecht	Ø Alter (Mo)	Ø G <sub>B</sub> (g)
Männlich und Weiblich	35	56,8
Männlich	19	58,4
Weiblich	51	55,1

Ø Durchschnittswerte, G<sub>B</sub>: Gewicht des behandelten Ileums

Abbildung 10 zeigt die Abhängigkeit des Ileumgewichtes, nach der Behandlung, vom Alter der 129 beprobten Rinder.

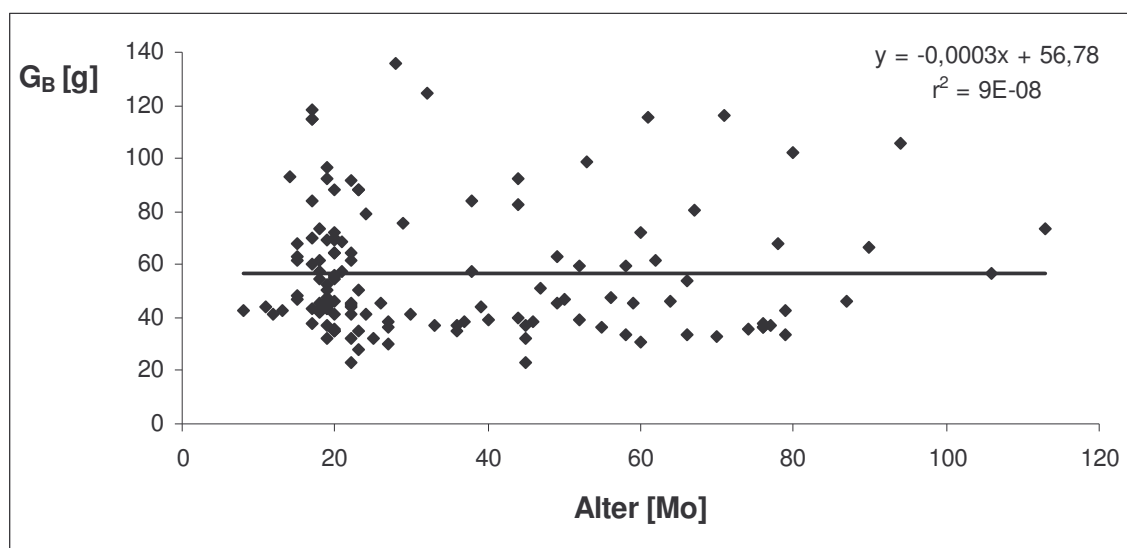


Abbildung 10: Gewicht des bearbeiteten Ileums in Abhängigkeit vom Alter der Tiere

G<sub>B</sub>: Gewicht des behandelten Ileums

Beim Schlachtendgewicht der Rinder zeigte sich im Mittel ein Wert von 315,9 kg ± 40,5 mit einer Spannweite von 86,6 bis 482,8kg. Der Zusammenhang zwischen Schlachtendgewicht der Tiere und dem Gewicht des Ileums nach der Bearbeitung ist in Abbildung 11 dargestellt.

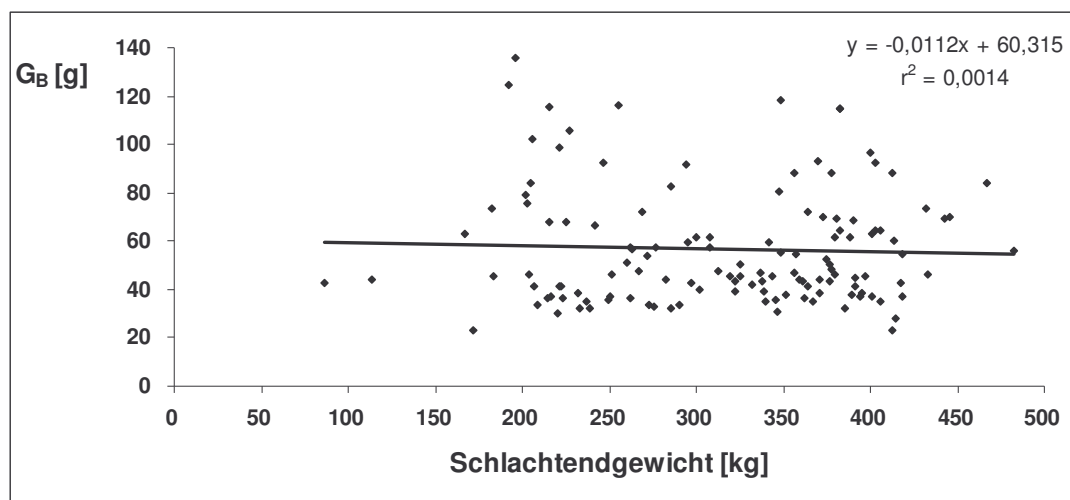


Abbildung 11: Gewicht des bearbeiteten Ileums in Abhängigkeit vom Schlachtendgewicht der Tiere;  $G_B$ : Gewicht des behandelten Ileums

## 4.2 Histologische Untersuchung der Ilea

Insgesamt wurden 13 Ileumproben entnommen und von diesen, nach drei verschiedenen Bearbeitungsschritten, 114 histologische Schnitte angefertigt. Die Untersuchung erfolgte an unbearbeiteten, bearbeiteten Proben und an Abschnitten bei denen beide Bereiche nebeneinander präpariert worden. In diesen Schnitten ist es möglich, beide Bearbeitungsstufen nebeneinander zu analysieren. Die systematische Auswertung der Schnitte umfasste zunächst die Ermittlung der verbliebenen Darmwandschichten. Die unbearbeiteten Proben zeigen alle den üblichen Grundbauplan des Rumpfdarms aus fünf Schichten. In Abbildung 12 sind die einzelnen Schichten der Wand einer unbearbeiteten Probe zu sehen.

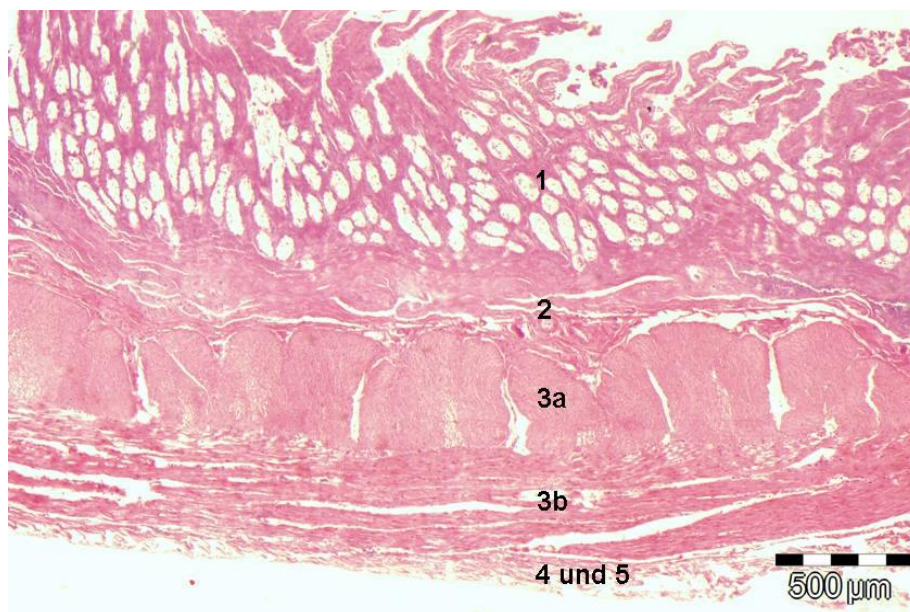


Abbildung 12: Schichten der Darmwand einer unbearbeiteten Ileumprobe, von oben (innen) nach unten (außen): *Tunica mucosa* (1), *Tela submucosa* (2), *Tunica muscularis* (3a: *Stratum circulare* und 3b: *Stratum longitudinale*), *Tela subserosa* und *Tunica serosa* (4 und 5). Ileum, Probennummer: I-03, Paraffinschnitt, HE-Färbung

Durch die manuelle Bearbeitung der Darmabschnitte wurde bei 24 Proben die *Tunica mucosa* vollständig entfernt. In den Schnitten der bearbeiteten Proben besteht die Darmwand somit aus *Tela submucosa*, *Tunica muscularis*, *Tela subserosa* und *Tunica serosa*. Einzelne Reste der *Tunica mucosa* konnten somit bei 18 Schnitten nachgewiesen werden. In Abbildung 13 sind die einzelnen Schichten der Wand einer bearbeiteten Probe zu sehen.

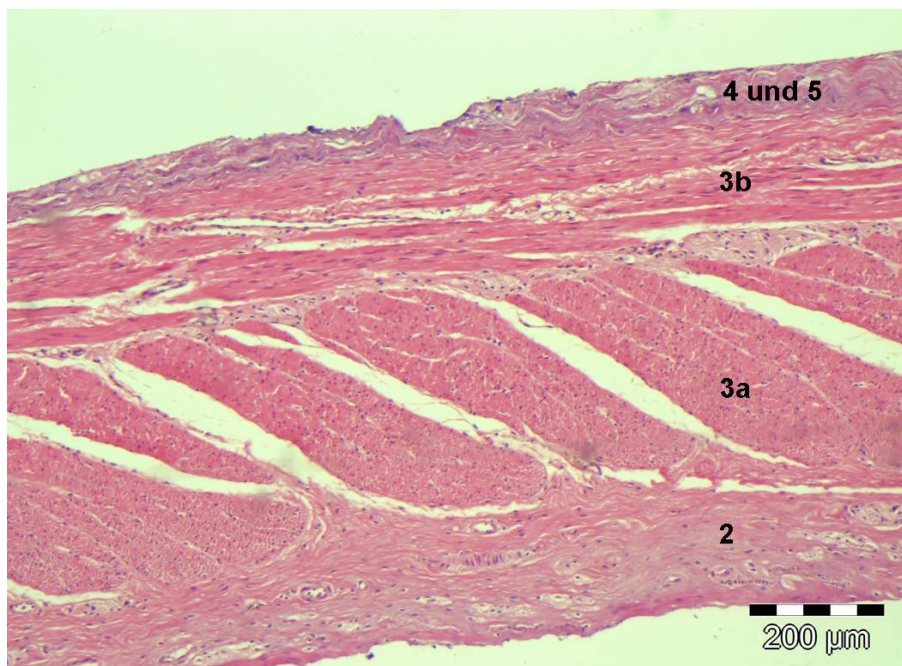


Abbildung 13: Schichten der Darmwand einer bearbeiteten Ileumrobe, von oben (außen) nach unten (innen): *Tela subserosa* und *Tunica serosa* (4, 5), *Tunica muscularis* (3a: *Stratum circulare* und 3b: *Stratum longitudinale*), *Tela submucosa* (2). Ileum, Probennummer: I-02, Paraffinschnitt, HE-Färbung

Im Anschluss an die Untersuchung der Darmwand wurde in sämtlichen Präparaten geprüft, ob LG, in Form von PP oder SF, vorhanden ist. Wenn PP bzw. SF zu sehen waren, wurde ihre Lokalisation innerhalb der Darmwandschichten bestimmt. In keinem der 42 Schnitte, die von den bearbeiteten Ilea angefertigt wurden, konnten PP oder SF nachgewiesen werden. Von insgesamt 36 Schnitten aus den unbearbeiteten Ilea zeigten 24 PP und/oder SF. Das entspricht einem Anteil von 67% an positiven Proben. Die PP und die SF waren bei den untersuchten Proben in allen drei Abschnitten des unbearbeiteten Ileums zu finden. In den 36 Schnitten, in denen bearbeitete und unbearbeitete Bereiche nebeneinander liegen, wurden PP und SF, mit einer Ausnahme, ausschließlich in den unbearbeiteten Arealen nachgewiesen. Das LG war bei Probe I-04 in allen drei Abschnitten des Ileums, in Probe I-07 und I-12 im distalen Stück zu finden. In den medialen Schnitten der Probe I-07 konnten Reste an LG auch in den bearbeiteten Bereichen nachgewiesen werden. Insgesamt enthielten 31 der untersuchten Schnitte LG. Das entspricht einem Anteil von 86%. Abbildung 14 zeigt ein Schnitt mit LG im unbearbeiteten Bereich, das durch die Bearbeitung, zusammen mit der *Tunica mucosa*, entfernt worden ist.



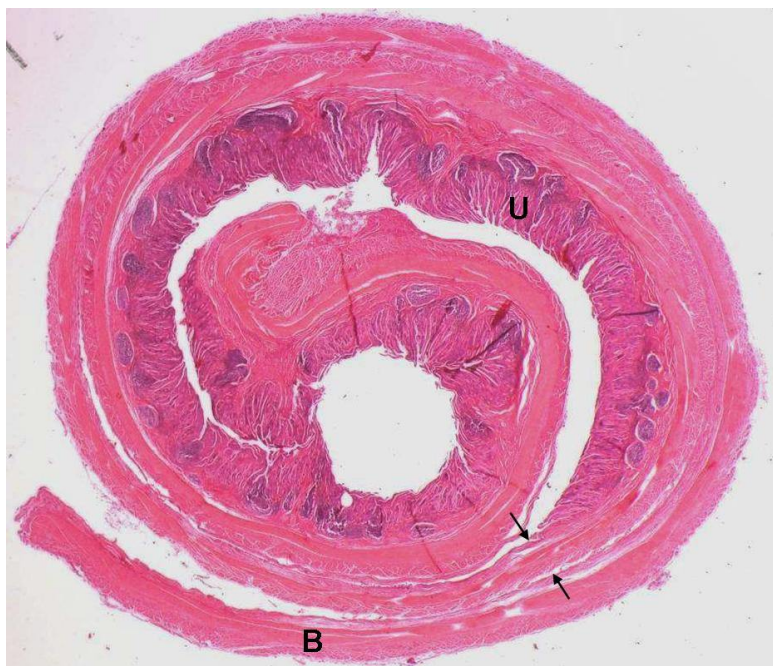


Abbildung 14: Schnitt einer Probe mit einem bearbeiteten (B) und unbearbeiteten (U) Bereich, die Pfeile markieren den Übergangsbereich, Ileum, Probennummer: I-07, Paraffinschnitt, HE-Färbung

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Ilea und die Daten der beprobten Rinder zeigt Tabelle 13. Eine Zusammenfassung der Daten, getrennt nach der Bearbeitungsmethode, ist in der darauf folgenden Tabelle 14 zu sehen.

Tabelle 13: Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Ilea und Daten der beprobten Rinder

Ileum	Rasse, Alter, Geschlecht	Bearbeitung	Darmabschnitt	Schnitte gesamt	Schnitte mit LG	
I-01	SBT 19 M ma	bearbeitet	Ileum proximal medial distal	3 3 3	0 0 0	
I-02	SBT 76 M fe	bearbeitet	Ileum proximal medial distal	9 9 9	0 0 0	
I-03	SBT 45 M fe	unbearbeitet	Ileum proximal medial distal	3 3 3	0 3 3	SF SF
I-04	Uckermärker 21 M fe	bearbeitet neben unbearbeitet	Ileum proximal medial distal	6 6 6	6 6 6	PP*, SF* PP*, SF* PP*, SF*
I-05	SBT 42 M fe	unbearbeitet	Ileum proximal medial distal	3 3 3	0 3 3	SK PP, SF
I-06	SBT 34 M fe	unbearbeitet	Ileum proximal medial distal	3 3 3	3 0 0	SF
I-07	SBT 34 M fe	bearbeitet neben unbearbeitet	Ileum proximal medial distal	5 5 5	0 5 5	PP*, SF*/(SF**) PP*, SF*
I-08	SBT 13 M ma	bearbeitet	Ileum proximal	3	0	
I-09	SBT 13 M ma	unbearbeitet	Ileum distal	3	3	PP
I-10	SBT 18 M fe	bearbeitet	Ileum proximal	3	0	
I-11	SBT 18 M fe	unbearbeitet	Ileum medial	3	3	PP
I-12	SBT 18 M fe	bearbeitet neben unbearbeitet	Ileum distal	3	3	PP*
I-13	SBT 12 M ma	unbearbeitet	Ileum medial	3	3	PP

() Nachweis in den verbliebenen Mukosaresten, \* Nachweis im unbearbeiteten Areal, \*\* Nachweis im bearbeiteten Areal

Tabelle 14: Anzahl der Ileumschnitte mit (+) und ohne (-) lymphatischem Gewebe, getrennt nach Bearbeitungsmethode

Methode	$\Sigma$	+	-
unbearbeitet	36	24	12
bearbeitet	42	0	42
bearbeitet neben unbearbeitet	36	26 */(5**)	5

() Nachweis in den verbliebenen Mukosaresten, \* Nachweis im unbearbeiteten Areal,

\*\* Nachweis im bearbeiteten Areal

Die LF der PP und die SF lagen in der *Tela submucosa* und wölbten sich zum Teil über die *Tunica mucosa* in das Darmlumen vor. Das in der *Tela submucosa* lokalisierte LG war dabei direkt unterhalb der *Tunica mucosa* zu finden. Die Ileaproben I-08 bis I-13, welche von jungen Rindern stammen, zeigten makroskopisch eine deutliche Vorwölbung der Schleimhaut, welche sich über die gesamte Länge und fast den gesamten Querschnitt erstreckte. Diese besaß jedoch nicht die typische Struktur einer JPP (Abb. 14), sondern wies eine glatte Oberfläche auf (Abb. 15).

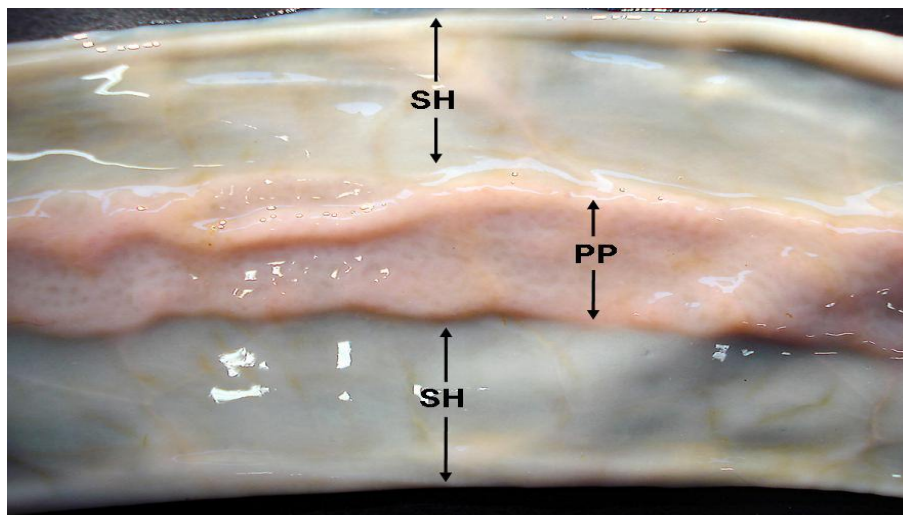


Abbildung 15: Struktur einer *Peyer'schen-Platte* im Jejunum (J-01), Probe weist einen breiten Schleimhautbereich (SH) auf; Jejunum mesenterial eröffnet

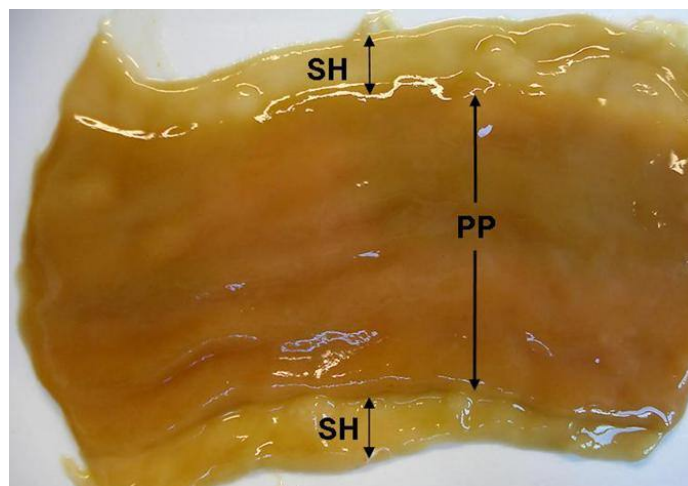


Abbildung 16: Struktur einer *Peyer'schen-Platte* im Ileum, die sich nahezu über den gesamten Querschnitt erstreckt (I-08), so dass nur noch kleine Schleimhautränder (SH) sichtbar sind; Ileum mesenterial eröffnet.

Diese Schleimhautverdickung war nicht von außen, sondern erst nach der Eröffnung der Darmabschnitte sichtbar. In der histologischen Untersuchung zeigte sich in den unbearbeiteten Schnitten der Proben I-09 und I-10 und I-13, dass es sich um PP handelte. Da in den bearbeiteten Proben I-08 und I-11 keine PP mehr nachgewiesen wurden, kann geschlossen werden, dass hier die PP durch die manuelle Bearbeitung entfernt worden sind. Dies wird ebenfalls vom Ergebnis der Probe I-12 gestützt, bei der die bearbeiteten Areale keine, die unbearbeiteten Areale dagegen PP aufweisen. Die Ileaprobe I-01 bis I-07 zeigten weder sichtbare PP, noch die oben beschriebene Struktur. Kein Ileum wies pathologisch-anatomische Veränderungen auf.

#### 4.3 Histologische Untersuchung der Jejuna

Es wurden von 11 Jejunumproben verschiedene Teilabschnitte entnommen und nach der Bearbeitung 39 histologische Schnitte angefertigt. Die Untersuchung erfolgte an unbearbeiteten und bearbeiteten Jejunumproben. Erneut wurde bei der dritten Methode ein Bereich des Jejunums bearbeitet, der unmittelbar danebenliegende Bereich nicht. In der systematischen Auswertung der Schnitte wurden zunächst die verbliebenen Darmwandschichten ermittelt. Die unbearbeiteten Proben zeigten alle den fünfschichtigen Grundbauplan des Rumpfdarms. Mittels manueller Bearbeitung der Darmabschnitte wurde die *Tunica mucosa* entfernt. Somit besteht

die Darmwand der bearbeiteten Proben aus *Tela submucosa*, *Tunica muscularis*, *Tela subserosa* und *Tunica serosa*. Schnitte in denen unbearbeitete und bearbeitete Areale nebeneinander liegen, zeigen in den jeweiligen Bereichen den fünf- bzw. den vierschichtigen Wandaufbau. Auch Proben aus dem Jejunum wiesen nach der Bearbeitung noch einige Reste der *Tunica mucosa* auf. Ausschließlich in diesen Resten der *Tunica mucosa* war das in den bearbeiteten Proben verbliebene LG zu finden. Bei einem geringen Anteil der Proben wurde durch die mechanische Bearbeitung stückchenweise auch die *Tela subserosa* und *Tunica serosa* mit entfernt. In Abbildung 17 ist im Übergangsbereich zwischen den beiden Bearbeitungsstufen zu erkennen, dass die *Tunica mucosa* entfernt wird.

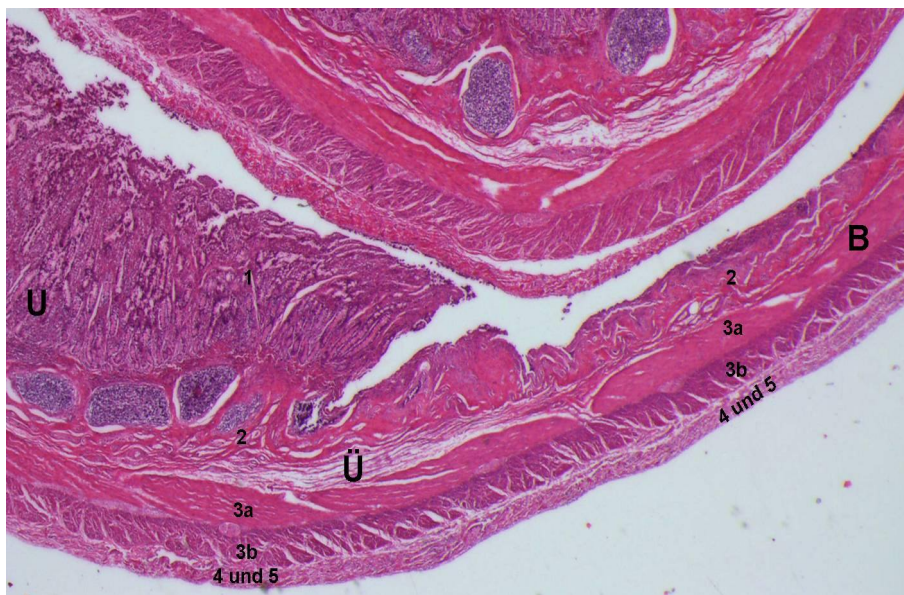


Abbildung 17: Übergangsbereich (Ü) zwischen einem bearbeiteten (B) und unbearbeiteten Bereich (U); Schichten der Darmwand: *Tunica mucosa* (1), *Tela submucosa* (2), *Tunica muscularis* (3a: *Stratum circulare*, 3b: *Stratum longitudinale*), *Tela subserosa* und *Tunica serosa* (4,5), Jejunum, Probennummer: J-03, Paraffinschnitt, HE-Färbung

Im Anschluss an die Dokumentation der Darmwandschichten wurde in sämtlichen Präparaten geprüft, ob LG vorhanden ist. Wenn dies der Fall war, wurde die Lokalisation innerhalb der Darmwandschichten bestimmt. Tabelle 15 zeigt eine Übersicht der Ergebnisse der histologischen Untersuchungen und die Daten der beprobten Rinder. In der darauf folgenden Tabelle 16 sind die Ergebnisse nach den Bearbeitungsmethoden zusammengefasst.



Tabelle 15: Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Jejuna und die Daten der Rinder

Jejunum	Rasse, Alter, Geschlecht	Bearbeitung	Darmabschnitt	Schnitte gesamt	Schnitte mit LG	
J-01	SBT 42 M fe	unbearbeitet	Jejunum	3	3	PP
J-02	SBT 42 M fe	bearbeitet	Jejunum	3	3	(SF)
J-03	SBT 18 M ma	bearbeitet neben unbearbeitet	Jejunum	3	3	PP*, SF*
J-04	SBT 18 M ma	unbearbeitet	Jejunum	3	3	PP
J-05	SBT 18 M ma	bearbeitet	Jejunum	3	0	
J-06	SBT 18 M ma	bearbeitet	Jejunum	3	3	(SF)
J-07	SBT 13 M ma	bearbeitet neben unbearbeitet	Jejunum	3	3	PP*, (SF)**
J-08	SBT 13 M ma	bearbeitet	Jejunum	3	0	
J-09	SBT 13 M ma	unbearbeitet	Jejunum	3	3	PP
J-10	SBT 19 M ma	bearbeitet	Jejunum	6	0	
J-11	SBT 15 M ma	bearbeitet	Jejunum	6	0	

() Nachweis in den verbliebenen Mukosaresten, \* Nachweis im unbearbeiteten Areal, \*\* Nachweis im bearbeiteten Areal

Tabelle 16: Anzahl der Jejunumschnitte mit (+) und ohne (-) lymphatischem Gewebe, getrennt nach Bearbeitungsmethode

Methode	$\Sigma$	+	-
unbearbeitet	9	9	0
bearbeitet	24	(6)	18
bearbeitet neben unbearbeitet	6	3 */(3**)	0

() Nachweis in den verbliebenen Mukosaresten, \* Nachweis im unbearbeiteten Areal, \*\* Nachweis im bearbeiteten Areal

Alle Schnitte der unbearbeiteten Jejunumproben (J-01, J-04, J-09) wiesen PP auf. In zwei der bearbeiteten Jejunumproben (J-02, J-06) konnten auch nach der Bearbeitung Reste an SF gefunden werden. Diese Reste lagen ausnahmslos dort, wo die *Tunica mucosa* bei der Bearbeitung nicht vollständig entfernt wurde. Die übrigen bearbeiteten Jejunumproben (J-05, J-08, J-10, J-11) wiesen nach der Bearbeitung kein LG mehr auf. In den Schnitten mit bearbeiteten und unbearbeiteten Arealen (J-03, J-07), sind in den unbearbeiteten Bereichen PP nachzuweisen. In Probe J-07 konnten Reste an SF auch in den bearbeiteten Bereichen gefunden werden. Die meisten Jejuna, welche für diese Untersuchung herangezogen wurden, zeigten makroskopisch gut sichtbare PP. Lediglich bei einem kleinen Teil der Proben waren keine bzw. nur Reste davon vorhanden. Die LF der PP in den unbearbeiteten Proben lagen in der *Tela submucosa*, unmittelbar unterhalb der *Tunica mucosa*. Vereinzelt ragten sie über die *Tunica mucosa* in das Darmlumen vor. Die entnommenen und untersuchten Jejunumproben wiesen keine pathologisch-anatomischen Veränderungen auf.

#### 4.4 Untersuchung des Rinderdünndarms auf sichtbares lymphatisches Gewebe

Die Untersuchung auf makroskopisch sichtbare PP wurde an jeweils einem Schlachttag in zwei verschiedenen Schlachthöfen durchgeführt. Die Beurteilung erfolgte an insgesamt 113 Därmen. Dabei wurde geprüft, ob PP vorhanden sind und in welchem Darmabschnitt diese vorkamen. Der Abschnitt galt als positiv, sobald eine PP zu sehen war. Die Abtrennung des Ileums vom Jejunum erfolgte wiederum anhand der *Plica ileocaecalis*. Aus organisatorischen Gründen war es nicht möglich



auch das Duodenum der Rinder mit zu untersuchen. Von den 113 untersuchten Schlachtrindern, wies nur ein 12 Mo altes Tier sichtbare PP im Ileum auf. In den Ilea der restlichen 112 Rinder wurden keine sichtbaren PP vorgefunden. Diese Tiere waren im Durchschnitt 43 Mo alt. Bei 98 der untersuchten Rinder, die im Durchschnitt 39 Mo alt waren, konnten sichtbare PP im Jejunum nachgewiesen werden. Somit besaßen lediglich 15 Tiere keine sichtbaren PP im Jejunum. Die Rinder dieser Gruppe sind mit 66 Mo die im Mittel Ältesten Tiere. Die Tabelle 17 und zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen auf sichtbare PP und das durchschnittliche Alter der Tiere, getrennt nach Ileum und Jejunum.

Tabelle 17: Zusammenfassung der Untersuchungsbefunde auf sichtbare *Peyer'sche-Platten* im Ileum und Jejunum, die Altersangaben stellen Durchschnittswerte ( $\emptyset$ ) dar

	Anzahl	Alter (Mo)		Anzahl	Alter (Mo)
Ilea mit PP	1	12	Jejuna mit PP	98	$\emptyset$ 39
Ilea ohne PP	112	$\emptyset$ 43	Jejuna ohne PP	15	$\emptyset$ 66

Abbildung 18 enthält die Häufigkeitsverteilung des Alters der Rinder, die bei der Untersuchung PP im Jejunum oder Ileum aufwiesen. Weiterhin sind die Tiere dargestellt, bei denen weder im Jejunum noch im Ileum PP gefunden werden konnte.

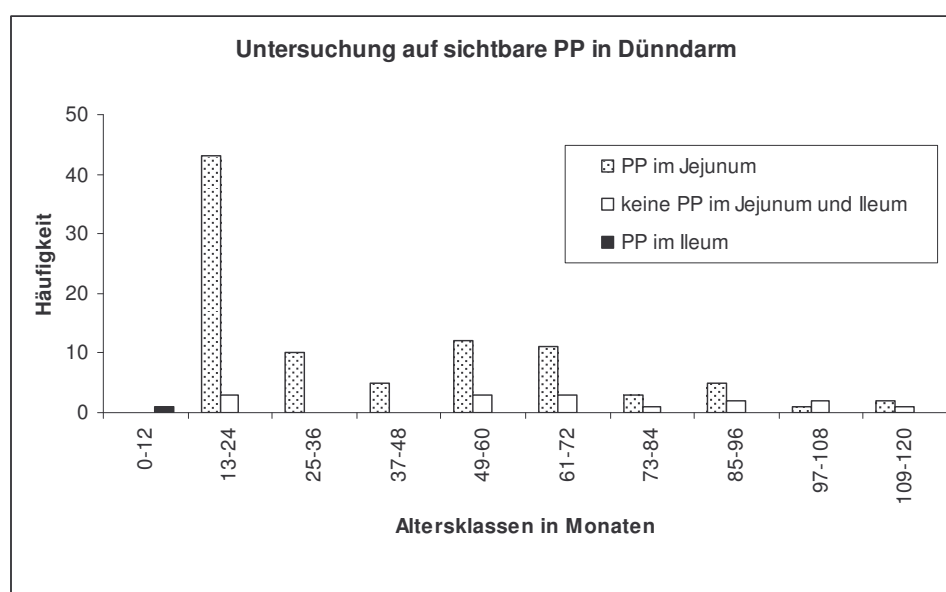


Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung des Alters der Rinder mit PP sowie ohne PP im Jejunum und Ileum

#### 4.5 Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung

42 Jejunumabschnitte, definierter Länge, wurden vor und nach der Bearbeitung gewogen und aus den erhaltenen Werten die Reduktion des Gewichtes bestimmt. Die Gewichts Differenz (GD) und die durchschnittlich Masse des unbearbeiteten bzw. bearbeiteten Jejunums pro Zentimeter ( $G_U$  und  $G_B$  g/cm) ist in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Mittelwerte aus der Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung der Därme

	$G_U$ (g/m)	$G_B$ (g/m)	GD (g/m)	GD (%/m )	$G_U$ (g/cm)	$G_B$ (g/cm)
<b>MW</b>	138,9	54,1	84,9	61,3	1,4	0,5

$G_U$ : Gewicht des unbearbeiteten Ileumabschnittes,  $G_B$ : Gewicht des bearbeiteten Ileumabschnittes  
GD: Gewichts Differenz

Aus den ermittelten Daten geht hervor, dass ein 1m langer Abschnitt aus dem Jejunum im Durchschnitt 138,9g wiegt. Durch die Bearbeitung sinkt das mittlere Gewicht auf 54,1g. Das entspricht einer Reduktion um 61,3%.

## 5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung boviner Ileä und Jejunä unter dem Gesichtspunkt der Einstufung des gesamten Rinderdarmes (Duodenum bis Rektum, einschließlich des Mesenteriums) als spezifiziertes Risikomaterial (SRM). Unter kontrollierten Bedingungen wurde das Ileum von Schlachtrindern entnommen und vor bzw. nach der manuellen Bearbeitung gewogen und gemessen. Mit den erhaltenen Daten wird das Problem der wissenschaftlichen Bewertung des humanen BSE-Expositionsrisikos, welches vom bovinen Ileum ausgeht, diskutiert. Außerdem wurden unbearbeitete und bearbeitete Ileä und Jejunä von Schlachtrindern auf das Vorkommen von LG untersucht. Die Ergebnisse werden im Kontext der momentan stattfindenden Diskussion über eine mögliche Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen und deren Nutzung als Naturdärme erörtert.

### 5.1 Gewicht und der Länge der Ileä

Die wissenschaftliche Bewertung des humanen BSE-Expositionsrisikos ist bis heute mit großen Unsicherheiten verbunden. Wesentliche Ursachen dafür sind fehlende Daten über grundlegende Parameter wie Infektionsdosis, wiederholte Expositionen mit kleinen Dosen oder alternative Infektionswege beim Menschen (BfR 2006). Zunehmend werden quantifizierende Risikobewertungen vom Risikomanagement gefordert und von Seiten der Wissenschaft auch durchgeführt (SSC 1999 (Tab. 7, S. 46); COMER und HUNTLY 2004 (Tab. 8, S. 47); EFSA 2005b). Derartige quantifizierende Berechnungen werden durch weitere unklar definierte Eingangsgrößen belastet. Deshalb sollten erfassbare Varianzeinflüsse so weit wie möglich reduziert werden. Eine der wichtigen Eingangsgrößen, neben der Infektionsdichte (COMER und HUNTLY 2003), ist die Masse des in die Nahrungskette eingebrachten potentiell infektiösen Materials. Im Jahr 1994 wurde durch die englische Pathogenesestudie (WELLS et al. 1994) erstmals die BSE-Infektiosität für das bovine distale Ileum demonstriert und in der Folge das Ileum bzw. danach der ganze bovine Darm von Duodenum bis Rektum, einschließlich des Mesenteriums, rechtlich als SRM eingestuft (ANON. 2001). Alle darauf folgenden Risikoabschätzungen legten als Masse für das Ileum eine Größe von 800g pro adultem Rind zugrunde. Eindeutige Literaturangaben, welche diese Größe wissenschaftlich belegen, fehlen. In den oben

genannten quantifizierenden Risikobewertungen werden als Grundlage für das Gewicht zwei verschiedene Quellen angegeben. Eine Analyse der von Wiederkäuern stammenden Produkte durch die LFRA (1997) sowie das Lehrbuch der Anatomie der Haustiere von NICKEL et al. (1992) werden als Fundstellen angeführt. In beiden sind Gewichtsangaben für Gehirn, Rückenmark, dorsale Wurzelganglien, Milz und Augen zu finden. Aus keiner der Quellen können eindeutige Angaben über das Gewicht des Ileums und der Trigeminusganglien entnommen werden. Die EFSA (2005b) bemerkt zum Gewicht des Ileums nur, dass die Masse von 800g etwas zu hoch angesetzt erscheint für einen Abschnitt, der bei einem adulten Rind ca. 1m des Darmes ausmacht. Beachtet werden muss, dass die Gewichtsangaben für Gehirn und RM Durchschnittswerte darstellen. In Abhängigkeit verschiedener Faktoren variieren die Organgewichte. Innerhalb der Tierarten existierende Abweichungen beruhen nach NICKEL et al. (2004) nicht nur auf der unterschiedlichen stammesgeschichtlichen Entwicklungsstufe, sondern stehen auch in Wechselbeziehung zur Körpergröße und zum Körpergewicht des Einzelindividuums. Die Länge und das Gewicht der einzelnen Abschnitte des Darmes weisen auch nach VOLLMERHAUS und ROOS (1999) individuelle und rassebedingte Unterschiede auf. Die EFSA (2005b) beschreibt in ihrem Bericht ebenfalls den Einfluss der Rasse und des Alters der Tiere auf das Gewicht der Materialien. Bei der Bewertung der gesamten Infektiosität eines an BSE erkrankten Rindes ist folglich immer mit einer gewissen Abweichung von den errechneten Mittelwerten (Tab.7 und Tab.8) auszugehen.

Die eigenen Untersuchungen erfassten insgesamt 129 Rinder, deren Ileum unter kontrollierten Bedingungen entnommen und in der Folge der technologischen Bearbeitung vermessen wurde. Von diesen 129 Rindern wurde Rasse, Geschlecht, Alter und Schlachtendgewicht erfasst. Wie aus Tabelle 9 (S. 55) hervorgeht wurden hauptsächlich Ilea von Rindern der Rasse Deutsche Holstein Schwarzbunte entnommen. Somit kann über den Einfluss der Rasse auf das Gewicht des Ileum keine sichere Aussage getroffen werden. Kein Einfluss auf das Gewicht des Ileums konnte in der vorliegenden Untersuchung für das Geschlecht gezeigt werden. Es wurden annähernd gleich viele männliche und weibliche Rinder untersucht (Tab. 10, S. 69). Im Mittel ergab sich zwischen den beiden Geschlechtern lediglich eine Differenz von drei Gramm (Tab. 12, S. 72). Das Durchschnittsalter, dieser nach dem Geschlecht getrennten Rinder, weist eine Differenz von 32 Mo auf (Tab. 12). In Kombination mit dem Vergleich der Abhängigkeit des Ileumgewichtes im bearbeite-

ten Zustand vom Alter aller beprobten Rinder (Abb. 10, S. 72) kann auch hier kein Zusammenhang zwischen den beiden Größen festgestellt werden. Wie aus Abbildung 11 (S. 73) hervorgeht, ist der Zusammenhang zwischen dem Gewicht des Ileums und dem Schlachtendgewicht in dieser Untersuchung nur sehr gering. Das Schlachtgewicht kann dem zufolge ebenfalls als Einflussfaktor bei der weiteren Betrachtung vernachlässigt werden. Wesentliches Ergebnis der Untersuchung ist ein mittleres Gewicht für das gesamte Ileum im entleerten und bearbeiteten Zustand von 57g (Spannweite: 23,1 bis 135,8g). Dieser Wert ist im Vergleich zu der in den bisherigen Risikobewertungen verwendeten Eingangsgröße von 800g um das 14-fache und damit um eine Größenordnung niedriger. Unter Verwendung dieser reduzierten Gewichtsbasis ergeben sich für die quantifizierende Risikobewertung des Ileums deutlich niedrigere Werte als bisher angenommen. Die Neuberechnung für das Ileum ist in Tabelle 19 im Vergleich zu den Daten von COMER und HUNTLY (2004) dargestellt.

Tabelle 19: Gegenüberstellung der Werte für das bovine Ileum aus der quantitativen Risikobewertung nach COMER und HUNTLY (2004) und der Neuberechnung auf Grundlage der eigenen Untersuchungen

Quelle	Tissue	Infectivity (boid <sub>50</sub> /g)	Weight (g) per Animal	boid <sub>50</sub> per Animal	% of total infective load per Animal
COMER und HUNTLY (2004)	Distal Ileum	5	800	4000	9,6
eigene Untersuchung	Distal Ileum	5	57	285	0,7

boid<sub>50</sub>: bovine orale infektiöse Dosis

Da die Berechnungen von COMER und HUNTLY (2004) auf aktuellen Daten bezüglich der Infektionsdichte beruhen, wird für den Vergleich dieselbe Infektionsdichte herangezogen. Nach COMER und HUNTLY (2004) ergibt sich für das distale Ileum bei einer bovinen oralen infektiösen Dosis von fünf pro Gramm eine infektiöse Dosis von 4000, dies ist ein prozentualer Anteil von 9,6% an der Gesamtinfektiosität bei einem voll infizierten BSE-Rind. In Folge dessen entfällt ca. 90% der Infektiosität auf das ZNS und das ZNS-nahe periphere Nervensystem. Unter Verwendung der gleichen bovinen oralen infektiösen Dosis von fünf pro g und dem hier ermittelten Ileumgewicht von 57g ergibt sich eine bovine orale infektiöse Dosis von 285.

Dementsprechend ist das Ileum lediglich mit einem prozentualen Anteil von 0,7% an der Gesamtfekundität beteiligt ein deutlich niedrigerer Wert als bisher angenommen wurde. Werden weitere Bearbeitungsschritte berücksichtigt, so können noch stärkere Abweichungen resultieren und dem zufolge relevante Fehler bei der Risikobewertung von SRM nicht ausgeschlossen werden. Im Hinblick auf die Effizienz des SRM-Verbots zur Risikoreduktion in der Lebensmittelkette ergibt sich mit den neuen Daten ein Anstieg von 95% auf 99% für das bovine ZNS und das ZNS-nahe periphere Nervensystem. Dies hebt die Bedeutung der vorsorglichen Entfernung des ZNS als SRM bei Rindern im Rahmen des Verbraucherschutzes hervor.

## 5.2 Histologische Untersuchung der Ilea und Jejuna

Die ersten wissenschaftlichen Untersuchungen über BSE zeigten Infekundität im distalen Ileum zunächst bei oral-experimentell infizierten Rindern (WELLS et al. 1994; 1998), später auch bei einem natürlich mit BSE infizierten Rind (BUSCHMANN und GROSCHUP 2005). Das PrP<sup>Sc</sup> ist im distalen Ileum mit den Follikeln der PP (TERRY et al. 2003; HOFFMANN 2007) und dem *Plexus nervorum myentericus* assoziiert (TERRY et al. 2003; IWATA 2006). Bei der Untersuchung des Darmes natürlich infizierter Rinder konnte bis heute in keiner Studie Infekundität in einem anderen Darmabschnitt nachgewiesen werden (TERRY et al. 2003; BUSCHMANN und GROSCHUP 2005; IWATA 2006). In einer kürzlich durchgeführten Studie gelang erstmalig der Nachweis geringer Mengen PrP<sup>Sc</sup> im jejunalen LG bei einem, mit einer hohen Dosis oral infizierten, Rind (EFSA 2009).

Auf der Grundlage der Erkenntnisse wurde und wird vorsorglich der gesamte Darm des Rindes (Duodenum bis Rektum, einschließlich des Mesenteriums) als SRM eingestuft (ANON. 2001) und diese Einstufung bis heute beibehalten. Nach dem Vorsorgeprinzip sind solche Maßnahmen in bestimmten Fällen möglich, wenn nach der Auswertung der verfügbaren Informationen die Möglichkeit einer gesundheits-schädigenden Wirkung festgestellt wird, wissenschaftlich aber noch Unsicherheit über die tatsächliche Gefahrenquelle besteht (ANON. 2002a). Obwohl TSE-Infekundität auch im Ileum der kleinen Wiederkäuer vorhanden ist (VAN KEULEN et al. 1996; SSC 2002), muss nach VO (EG) Nr. 999/2001 (ANON. 2001) nicht der gesamte Darm, sondern nur das Ileum bei Schaf und Ziege entnommen und als SRM entsorgt werden. Eine der Grundlagen für diese Entscheidung stellt eine Studie aus

dem Jahr 2004 von KOOLMEES et al. (2004), dar. In dieser wurde der Naturdarm des Schafes histologisch auf das Vorhandensein von PP untersucht. Dabei fand man keine PP in den manuell und maschinell bearbeiteten Naturdärmen des Schafes (KOOLMEES et al. 2004) was eine uneingeschränkte Nutzung dieser als Lebensmittel aus Sicht des verantwortlichen Risikomanagements rechtfertigt.

Das von Rinderdärmen ausgehende BSE-Risiko wurde in den vergangenen Jahren ebenfalls mehrfach wissenschaftlich bewertet (SSC 1997, 1999, 2000, 2002). Mit der Reformation des Europäischen Lebensmittelrechts fiel diese Aufgabe, gemäß der VO (Nr.) 178/2002 (ANON. 2002a), der EFSA zu. Diese wurde in den vergangenen Jahren mehrfach von der EC aufgefordert, anhand neu vorgelegter wissenschaftlich basierter Daten, das BSE-Risiko, welches von Rindernaturdärmen für den Verbraucher ausgeht, neu zu bewerten (EFSA 2005b, 2007, 2009).

Mit der eigenen Untersuchung werden weitere Daten aus der manuellen Bearbeitung der Rinderdärme in die derzeit stattfindende Diskussion der Neubewertung eingebracht. Nach KOOLMEES et al. (2004) gibt es bei Schafsdärmen keine signifikanten Unterschiede in der Effizienz der Reinigung zwischen der manuellen und der maschinellen Bearbeitung, sodass die Ergebnisse vergleichbar sind.

Vor der Bearbeitung waren 67% der untersuchten histologischen Schnitte aus den Ileumproben positiv auf LG (Tab. 14, S. 78). Das LG war dabei auch in den proximalen und medialen Abschnitten der Ileä zu finden (Tab. 11, S. 70). Somit ist das LG nicht nur auf das distale Ileum begrenzt, lediglich die Menge des LG nimmt im distalen Ileum zu (CARLENS 1928; VOLLMERHAUS und ROOS 1999). Folglich sollten sich die Werte aus den quantitativen Risikobewertungen des humanen BSE-Expositionsrisikos (SSC 1999; COMER und HUNTLY 2004) auf das gesamte Ileum und nicht nur auf den distalen Teil beziehen.

Wie in der Literatur von CARLENS (1928) beschrieben, besaßen die Tiere unter 20 Monaten deutlich ausgebildete PP. Da beim Rind die Altersinvolution der PP des Ileums zwischen dem 18. und 24. Mo (CARLENS 1928) beginnt, wurden bei den beprobten Rindern ab 34 Mo neben den PP auch SF, als Ergebnis der Involution, gefunden. Schnitte, in denen weder PP noch SF gefunden wurden, stammen alle von Rindern, die älter als 34 Mo waren (Tab. 11). Nach CARLENS (1928) wird das LG durch die Altersinvolution nicht vollständig zurückgebildet, sondern vereinzelt bleiben SF bestehen. In diesen Schnitten ist es demnach möglich, dass vorhandenes LG aufgrund der geringen Menge sowie der begrenzten Probenanzahl nicht detektiert



wurde. Durch die Altersinvolution konnte CARLENS (1928) die PP des Ileums bei Rindern über 24 Mo makroskopisch nicht mehr nachweisen. Auch in dieser Arbeit wurden bei der Entnahme der Proben für die histologische Untersuchung der Ilea von Rindern über 34 Mo keine sichtbaren PP gefunden. Die Ilea der sehr jungen Tiere, alle unter 20 Mo, zeigten dagegen alle eine deutliche Vorwölbung der Schleimhaut. In der anschließenden histologischen Untersuchung stellten sich diese Vorwölbungen als PP dar (Tab. 11). Die physiologische Rückbildung des LG im Ileum erklärt auch, warum bei der Untersuchung auf sichtbare PP nur ein Ileum von 113 untersuchten Ilea positiv war (Tab. 17, S. 83). Zwar war das jüngste negative Rind nur einen Mo älter als das Rind mit sichtbaren PP, aber der Beginn und die Ausprägung der Involution scheinen innerhalb der Tierart sehr variabel zu sein (CARLENS 1928).

Mit einer Ausnahme konnte in den bearbeiteten Ileumproben kein LG gefunden werden (Tab. 11). Da zwei der Proben auch unbearbeitet untersucht wurden und dabei PP aufwiesen, scheint es möglich, vorhandenes LG durch die manuelle Bearbeitung vollständig zu entfernen. Gestützt wird diese Aussage durch eine der Proben, in der ein bearbeiteter und ein unbearbeiteter Bereich nebeneinander präpariert wurden. Der nicht bearbeitete Abschnitt zeigt eindeutig PP, im bearbeiteten Abschnitt sind diese nicht mehr nachzuweisen. Fünf nach dieser Methode bearbeitete Schnitte weisen auch in den bearbeiteten Abschnitten LG auf (Tab. 11). Dabei handelt es sich um SF, die ausnahmslos in den verbliebenen Resten der *Tunica mucosa* zu finden waren. Dies scheint die einzige Lokalisation zu sein, in der LG in bearbeiteten Rinderdärmen verbleiben kann. Die SF der PP und die einzelnen SF liegen nach der einschlägigen Literatur in der *Lamina propria mucosae* oder in der *Tela submucosa* (LIEBLER-TENORIO 1985; SAHLENDER 1989; DELLMANN 1993; VOLLMERHAUS und ROOS 1999; FEDER 1999). Das in dieser Arbeit gefundene LG in der *Tela submucosa* lag direkt unterhalb der *Tunica mucosa*, wodurch es gelingt, das LG auch bei noch vorhandener *Tela submucosa* durch den Reinigungsprozess zu entfernen. Möglicherweise wird die vollständige Entfernung des LG durch die zeitig im Ileum einsetzende Altersinvolution unterstützt. Da lediglich 43% der untersuchten Proben Reste der *Tunica mucosa* aufwiesen, bei der manuellen Bearbeitung von Schafsdärmen (KOOLMEES et al. 2004) und der maschinellen Bearbeitung von Rinderdärmen (WIJNKER et al. 2008) 87% bzw. 100% der Proben Reste der *Tunica mucosa* zeigten, scheint die Bearbeitungsme-

thode beim Rinderdarm Einfluss auf die Effizienz der Reinigung zu haben. Der manuell zu reinigende Rinderdarm wird vor der Bearbeitung gewendet und zwei- bis dreimal pro Abschnitt geschleimt. Dies reicht in der Regel aus, um die sichtbare Mukosa der Rinderdärme zu entfernen. Wird manuell geschleimt, ist es dem Bearbeiter zudem möglich, evtl. noch anhaftende sichtbare Mukosareste nachzuarbeiten, dies kann bei der maschinellen Bearbeitung nicht erfolgen. Die vorgefundene anatomische Lage des LG in der Darmwand steht einer kompletten Entfernung bei der Reinigung nicht entgegen. Hier scheint einzig die Reinigungseffizienz einen Einfluss zu haben, da nur in den nicht entfernten Resten der *Tunica mucosa* LG verblieb.

Beim Vergleich der histologischen Ergebnisse fällt auf, dass alle unbearbeiteten Proben aus dem Jejunum PP aufwiesen (Tab. 15, S. 81). Das PP bei Schlachtrindern ein häufiger Befund ist, zeigte die Untersuchung auf sichtbares LG. Von insgesamt 113 Jejuna waren 98 positiv, wobei das Alter der Rinder von 13 bis 115 Mo reichte (Tab. 17). Die JPP spielen eine zentrale Rolle bei der Aufnahme von Antigenen aus dem Darmlumen und bei der Induktion lokaler Immunantworten (YSAUDA et al. 2002). Diese Funktion wird während der gesamten Lebensspanne aufrecht erhalten (YASUDA et al. 2006a; 2006b), weshalb im Jejunum auch bei adulten Tieren vereinzelt PP zu finden sind (LIE et al. 2005). Somit werden die meisten der auf dem Schlachthof für die Naturdarmherstellung gewonnenen Rinderjejuna PP enthalten. Da lediglich bei zwei der bearbeiteten Proben SF nachweisbar waren (Tab. 15), kann von einer hohen Reinigungseffizienz bei der manuellen Bearbeitung der Därme ausgegangen werden. Die SF waren wiederum ausschließlich in den verbliebenen Resten der *Tunica mucosa* zu finden. Dass die manuelle im Vergleich zur maschinellen Reinigung höchstwahrscheinlich effektiver ist, zeigen die Ergebnisse der Bestimmung der Gewichtsreduktion, welche hauptsächlich durch die Entfernung der Mukosa bedingt ist (WIJNKER et al. 2008). Während für die maschinelle Bearbeitung der Rinderdärme eine Reduktion von 42% angegeben wird (WIJNKER et al. 2008), konnte in dieser Studie ein Wert von 61% ermittelt werden (Tab.18, S. 84). Für die Proben, bei denen nicht bearbeitete und bearbeitete Abschnitte nebeneinander liegen, gelten analog die beim Ileum getroffenen Aussagen, da die entsprechenden Ergebnisse auch in den Schnitten der Jejunumproben gefunden werden konnten.

Quantitativ histologische Untersuchungen am maschinell bearbeiteten Rinderdarm sind kürzlich vom Institut für wissenschaftliche Risikobewertung (Institute for Risk

Assesment Sciences) und der Abteilung für Tiergesundheit der Universität von Utrecht (Department of Farm Animal Health of Utrecht University) durchgeführt worden (WIJNKER et al. 2008). Die Untersuchungen zeigen, dass ca. 90 % der Schleimhaut, 48 % des LG und kein NG (*Plexus submucosus* und *Plexus nervorum myentericus*) bei der maschinellen Bearbeitung entfernt wird. Quantitative histologische Bildanalysen ergaben, dass 100 cm gereinigter Rinderkranzdarm durchschnittlich 64 g wiegt und etwa 2,8 g Schleimhaut, 0,3 g LG und 0,1 g NG enthält. In einer Worst-Case-Situation würde bei einer Mahlzeit (200 g, 25 cm), Mitverzehr der Darmhülle vorausgesetzt, 0,09 g LG und 0,02 g NG aufgenommen werden. Die Studie kam zu dem Schluss, dass die relevante BSE-Infektiosität bei Rinderdärmen auf das Ileum beschränkt ist, das Ileum infolge seiner Struktur für die Herstellung von Wursthüllen nicht geeignet erscheint, sich eine zusätzliche Reduktion des BSE-Risikos für den Verbraucher durch die Art der Verarbeitung von Rinderdärmen ergibt und der tatsächliche Verzehr von Rinderdärmen infolge ihrer nachteiligen sensorischen Eigenschaften ausgesprochen selten ist. Insgesamt wird aus den Ergebnissen dieser Studie und angesichts der aktuellen BSE-Inzidenzen der Schluss gezogen, dass durch kommerziell aus Rinderdärmen hergestellte Wursthüllen kein messbares Risiko für die Verbraucher entstünde. Im Jahr 2005 veröffentlichte die EC einen „Fahrplan für die TSE-Bekämpfung“ (EC 2005) mit wünschenswerten kurz-, mittel- und langfristigen Änderungen der Maßnahmen zur Bekämpfung der BSE-Erkrankung, bei gleichbleibend hohem Standard bezüglich Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz. Angesichts der rückläufigen BSE-Fallzahlen innerhalb der EU, neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse und der enormen wirtschaftlichen Kosten sollen schrittweise die Auflistung und/oder die Altersgrenzen für SRM reduziert werden. Bereits 2005 hatte die EFSA anlässlich einer Stellungnahme zu den Altersgrenzen für SRM festgestellt (EFSA 2005b), dass derzeit keine neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse vorlägen, um den Status von Rinderdärmen zu ändern. Angesichts der vorgelegten Studie hat die EC im Sinne der in dem „TSE Roadmap“ sowie in der VO 178/2002 (ANON. 2002a) aufgezeigten Strategie die EFSA gebeten, die Studie von WIJNKER et al. (2008) zu evaluieren und gegebenenfalls das von Rinderdärmen für den Verbraucher ausgehende BSE-Risiko neu zu bewerten. In ihrer Stellungnahme hielt die EFSA (EFSA 2007) die vorgelegten Ergebnisse nicht für ausreichend, um eine Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen durchzuführen. Die Studie liefere zwar Hinweise, dass nach der

Bearbeitung von Rinderdärmen signifikante Mengen an LG entfernt würden, jedoch sei die Quantifizierung der Reduktion des LG infolge methodologischer Probleme nicht verwertbar, Kontaminationen mit LG nicht auszuschließen und die Studie sei nicht an infektiösem Material durchgeführt worden, dem zufolge würde jede Information über die tatsächliche Reduktion der Infektiosität fehlen. Insgesamt lägen für eine Neubewertung des BSE-Risikos durch Rinderdärme derzeit nur ungenügende Daten vor.

Ein weiterer Expertenbericht, der sich ausführlich mit diesem Thema beschäftigt, wurde Ende 2008 durch das Schweizer Bundesamt für Veterinärwesen an die EC übermittelt. Die Studie wurde durch die „Det Norske Veritas Ltd“ (DNV) im Auftrag des Schweizer Bundesamtes für Veterinärwesen erstellt (ANON. 2009). In der Untersuchung sind weitere wissenschaftliche Argumente für die Nutzung von Rinderdärmen aus Ländern mit kontrolliertem BSE-Risiko angeführt. Dabei stützt sich die Studie auf bereits vorhandene Daten der Untersuchung von WIJNKER et al. (2008). Die Studie führt an, dass das Ileum nicht zur Produktion der Naturdärme verwendet wird und die potentielle Infektiosität der restlichen Darmabschnitte 100-mal geringer als im ZNS ist. Von anderen Rindfleischprodukten, wie dem T-Bone-Steak oder Kopffleischpasteten, geht ein viel höheres BSE-Risiko, als von Rindernaturdärmen aus, weswegen das Expositionsrisiko pro Person und Jahr als sehr gering eingeschätzt wird. Das in der Studie auf der Grundlage verschiedener Parameter kalkulierte individuelle humane Expositionsrisiko, welches von in der EU produzierten bovinen Naturdärmen ausgeht, wird mit 1.000 Co ID<sub>50</sub> pro Jahr angegeben. Dieser Wert erhöht sich auf 11.000 Co ID<sub>50</sub> pro Jahr, sofern die Naturdärme aus dem VK stammen (EFSA 2009). Der Bericht des DNV wurde von der EC erneut an die EFSA zur Evaluierung der Ergebnisse übermittelt. Im Kontext früherer Stellungnahmen sowie unter Einbeziehung der bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnisse sollte die Möglichkeit einer Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen nochmals geprüft werden. In dem ausführlichen Gutachten (EFSA 2009) kommt die EFSA wiederum zu dem Schluss, dass die vorliegenden Daten nicht ausreichen, um das BSE-Risiko von Rinderdärmen neu zu bewerten. Die Hauptkritikpunkte sind dabei das Zugrundelegen nicht gesicherter Werte, wie die Menge an produzierten Rinderdärmen in der EU oder die Menge der potentiellen Infektiosität im Rinderdarm. In der Studie wird nicht berücksichtigt, dass kürzlich der Nachweis minimaler Infektiosität im Jejunum eines oral infizierten Rindes gelang, sondern es wird in der

Studie davon ausgegangen, dass nur das Ileum infektiös ist. Dieses wird aber bei der Produktion der Wursthüllen entfernt. Frühere Empfehlungen der EFSA (2007) bezüglich weiterhin offener Fragen, wie z.B. das Problem der Kreuzkontamination während der Herstellung, wurden in der Untersuchung nicht aufgegriffen. Konzept und Methodik sind zwar wissenschaftlich schlüssig, mit der Interpretation der Resultate durch die DVN stimmt die EFSA jedoch nicht überein. Das jährliche, von Rindernaturdärmen ausgehende humane Expositionsrisiko in der EU kann nicht als vernachlässigbar angesehen werden. Somit bleibt die zuvor erarbeitete Stellungnahme (EFSA 2007) über die Neubewertung des BSE-Risikos von Rinderdärmen weiterhin gültig. Ein zusätzliches Problem bei der Neubewertung des BSE-Risikos ergibt sich aus der Tatsache, dass in gereinigten Rinderdärmen das darmassoziierte NG noch vorhanden ist (EFSA 2009; WIJNKER et al. 2009). Bei natürlich mit BSE infizierten Rindern (TERRY et al. 2003; IWATA 2006) konnte eine schwache PrP<sup>Sc</sup>-Präsenz im *Plexus nervorum myentericus* des distalen Ileums mittels IHC und WB nachgewiesen werden. Kein PrP<sup>Sc</sup> konnte dagegen bei experimentell infizierten Rindern im darmassoziierten NG detektiert werden (HOFFMANN et al. 2007). Das Auftreten von PrP<sup>Sc</sup> im darmassoziierten NG scheint bei Rindern auf spätere Zeitpunkte der Infektion beschränkt zu sein. Zu diesem Zeitpunkt ist das ZNS bereits involviert und die Erkrankung mittels BSE-Schnelltest detektierbar. Auf diesem Weg würden die Därme mit schwacher PrP<sup>Sc</sup>-Präsenz im *Plexus nervorum myentericus* sicher von der weiteren Verarbeitung ausgeschlossen werden können.

Gegenwärtig wird versucht, im Sinne der in der TSE-Roadmap und der VO 178/2002 (ANON. 2002a) aufgezeigten Strategien, eine Neubewertung des BSE-Risikos, welches von Rinderdärmen für den Verbraucher ausgeht, anzuregen. Dazu wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt und evaluiert. Die vorliegende Arbeit lässt weitere Daten in diese Diskussion einfließen. Die Ergebnisse stützen die Aussage, dass durch die Reinigung der Därme signifikante Mengen an LG entfernt werden. Unter Berücksichtigung der aktuellen BSE-Inzidenzen, der Verteilung und der Höhe der BSE-Infektiosität im Rinderdarm und seiner sensorischen Eigenschaften stellt die Übertragung von BSE durch Rinderdärme ein geringes, gegebenenfalls sogar ein vernachlässigbares Risiko dar.

## 6 Zusammenfassung

Katrin Zetzsche

### **Untersuchung des Rinderdarmes im Hinblick auf seine Nutzung als natürliche Wursthülle und seine Einstufung als spezifiziertes Risikomaterial**

Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im März 2010

98 S., 18 Abb., 19 Tab., 314 Lit., Anhang (5 Tab.)

Schlüsselwörter: Risikobewertung, BSE, Rindernaturdärme, lymphatisches Gewebe, Expositionsrisiko, Spezifiziertes Risikomaterial

Knapp 25 Jahre nach dem ersten Auftreten der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) in Europa, bleibt die Entfernung und unschädliche Beseitigung des sogenannten spezifizierten Risikomaterials (SRM) eine der wichtigsten Maßnahmen zur Reduzierung des humanen oralen BSE-Expositionsrisikos. Angesichts des Rückgangs der BSE-Inzidenzen in Europa hat sich die Europäische Kommission (EC) in ihrer „TSE Roadmap“ das Ziel gesetzt, die Auflistung und/oder die Altersgrenzen für das SRM schrittweise zu modifizieren. In diesem Sinne hat die EC die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) mehrfach aufgefordert, das BSE-Risiko anhand aktueller Daten neu zu bewerten, insbesondere das, welches von Rindernaturdärmen für den Verbraucher ausgeht. Die wissenschaftliche Bewertung des humanen BSE-Expositionsrisikos ist jedoch bis heute mit großen Unsicherheiten verbunden und deshalb sollten erfassbare Varianzeinflüsse so weit wie möglich reduziert werden. Nachdem experimentell BSE-Infektiosität im distalen Ileum demonstriert wurde, erfolgte vorsorglich die Einstufung des gesamten bovinen Darmes (Duodenum bis Rektum, einschließlich des Mesenteriums) als SRM. Eine der wesentlichen Eingangsgrößen bei der wissenschaftlichen Bewertung des Expositionsrisikos ist die Masse des in die Nahrungskette eingebrachten potentiell



infektiösen Materials. Alle bis zum heutigen Zeitpunkt durchgeführten Risikobewertungen legten eine Masse von 800 g für das bovine Ileum zugrunde.

Die eigenen Untersuchungen hatten das Ziel die Gewichtsangabe des bovinen Ileums zu validieren, die Effizienz des SRM-Verbotes zur Reduktion des humanen oralen BSE-Infektionsrisikos sowie das Infektionspotential nach der Bearbeitung des Darmes im Hinblick auf seine Einstufung als SRM einzuschätzen. Von 129 Schlachtrindern wurde das Ileum unter kontrollierten Bedingungen entnommen und in der Folge der technologischen Bearbeitung vermessen. Zudem wurden 13 bovine Ilea und 11 Jejuna jeweils vor und nach der manuellen Bearbeitung histologisch auf das Vorkommen von lymphatischem Gewebe untersucht. Das lymphatische Gewebe des Darmes stellt wahrscheinlich den Ort der Erregeraufnahme nach einer oralen BSE-Infektion dar. Wesentliches Ergebnis ist ein mittleres Gewicht für das bovine Ileum im entleerten und bearbeiteten Zustand von 57 g (Spannweite: 23,1 bis 135,8 g). Dieser Wert liegt im Vergleich zu der bisher verwendeten Eingangsgröße um eine Größenordnung niedriger. Im Hinblick auf die Effizienz des SRM-Verbots zur Risikoreduktion in der Lebensmittelkette ergibt sich mit den neuen Daten ein Anstieg von 95% auf 99% für das zentrale Nervensystem (ZNS) und das ZNS-nahe periphere Nervensystem. In den histologischen Untersuchungen konnte lymphatisches Gewebe nur bei einer der bearbeiteten Ileumproben (7,7%) und zwei der bearbeiteten Jejunumproben (18,2%) gefunden werden. Dies zeigt, dass durch die Bearbeitung der Rinderdärme der größte Teil des lymphatischen Gewebes entfernt wird.

Die vorliegenden Ergebnisse stützen die Aussage anderer Studien, dass durch die Reinigung der Därme signifikante Mengen an lymphatischem Gewebe entfernt werden. Aufgrund des niedrigen Ileumgewichtes und der effektiven Entfernung des lymphatischen Gewebes kann der Anteil des Ileums an der gesamten Infektiosität, bei einem klinisch an BSE erkrankten Rind, als sehr gering eingestuft werden. Das bovine Ileum ist nach vorliegender Untersuchung lediglich mit 1 % an der Gesamtinfektiosität beteiligt und nicht, wie bisher angenommenen, mit 3,3 % bzw. 9,6 %. Angesichts dieser Ergebnisse, der aktuellen BSE-Inzidenzen in Europa, der Verteilung und Höhe der BSE-Infektiosität im bovinen Darm wird, wie auch von einer Reihe anderer Autoren, die Übertragung von BSE durch Rinderdärme als ein vernachlässigbares Risiko angesehen. Vor diesem Hintergrund sollte der SRM-Status der Rinderdärme erneut geprüft und bewertet werden.



## 7 Summary

Katrin Zetzsche

Examination of bovine intestines with regard to its utilisation as natural sausage casing and its assessment as specified risk material

Institute of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in March 2010

98 pp., 18 fig., 19 tables, 314 ref., app. (5 tables)

Keywords: risk assessment, BSE, natural sausage casings, lymphatic tissue, risk of exposure, specified risk material

Nearly two and a half decades after the emergence of a new transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in bovines (BSE) in Europe the ban on so called specified risk material (SRM) remains the most important measure to reduce any potential oral human BSE exposition risk from the food chain. In view of the overall and constant reduction of the frequency of bovine TSE cases in Europe the European Commission expressed in its “TSE-road map” the need for a future lifting of the SRM-ban and the European Food Safety Authority has been repeatedly asked by the European Commission to re-assess the BSE risk for the consumer on the basis of current data, amongst others the risk associated with natural bovine sausage casings. However, the scientific evaluation of the human BSE exposition risk is impeded by great uncertainties and ascertainable variances should be reduced as far as possible.

After BSE-infectivity was demonstrated experimentally for the distal bovine ileum, the whole bovine intestine from duodenum to rectum including mesentery was categorized as specified risk material (SRM). The weight of potential infective material brought into the food chain is a major influencing variable in this context. All subsequent studies concerning the human BSE exposure risk have been based on an ileum weight of 800 g per adult cattle.

The aim of the own studies was to validate the existing measurement of bovine ileum and its infectivity after processing with respect to the efficiency of the SRM ban for a risk reduction in the food chain. 129 ilea were removed from slaughtered cattle and weighted during subsequent technical processing. In parallel, 13 bovine ileum and 11 jejunum samples were analyzed histologically before and after manual processing in order to detect lymphatic tissue which is presumed to be the point of entry for the infective agent.

The mean weight for the whole empty and processed ileum was 57 g ranging from 23.1 g to 135.8 g. This is one order of magnitude lower than the input level used to date. Residues of lymphatic tissue were detected in one of the processed ileum samples (7.7%) and two of the jejunum samples (18.2%). This means that the major part of lymphatic tissue is removed from the bovine intestine during the different processing steps. Our results are backed up by a number of studies made by other researchers who showed that significant quantities of lymphatic tissues are removed from the bovine intestine by cleaning. The ileum has to be recognized as only a minor fraction of the total infective load per animal due to its weight and the removal of most lymphatic tissue during processing.

Contrary to previous assumptions that ileum amounts to 3.3 and 9.6% respectively of the total infective tissues this study clearly shows that this premise has to be corrected to 1%. Regarding these results in combination with the decreasing BSE incidences in Europe, the distribution and the amount of the BSE infectiosity the potential BSE-infectivity represented by the bovine intestine can be considered negligible. This assessment is shared by numerous authors. A possible amendment of the current SRM status of bovine intestine should be re-assessed.

## 8 Literaturverzeichnis

Abe K, Ito T. A qualitative and quantitative morphologic study of Peyer's Patches of the mouse. Arch Histol Jpn. 1977; 40(5):407-20.

Abe K, Ito T. Fine-Structure of Dome in Peyers Patches of Mice. Arch Histol Jpn. 1978; 41(3):195-204.

Ackerknecht E. Das Eingeweidesystem. In: Ellenberger W, Baum H. Herausgeber. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Nachdruck der 18. Auflage von 1943. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1974. S. 331-580.

Aguzzi A. Prion diseases of humans and farm animals: epidemiology, genetics, and pathogenesis. J Neurochem. 2006; 97(6):1726-39.

Aleksandersen M, Nicander L, Landsverk T. Ontogeny, Distribution and Structure of Aggregated Lymphoid Follicles in the Large-Intestine of Sheep. Dev Comp Immunol. 1991; 15(4):413-422.

Almond J, Pattison J. Human BSE. Nature 1997; 389(6650):437-8.

Amerongen HM, Weltzin R, Mack JA, Winner LS, III, Michetti P, Apter FM, et al. M cell-mediated antigen transport and monoclonal IgA antibodies for mucosal immune protection. Ann N Y Acad Sci. 1992; 664:18-26.

Anderson RM, Donnelly CA, Ferguson NM, Woolhouse MEJ, Watt CJ, Udy HJ, et al. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. Nature 1996; 382(6594):779-88.

Andreoletti O, Berthon P, Marc D, Sarradin P, Grosclaude J, van Keulen L, et al. Early accumulation of PrP<sup>(Sc)</sup> in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. J Gen Virol. 2000; 81(Pt 12):3115-26.

Anon. BSE-Risiko von Rinderdärmen extrem gering. Allgemeine Fleischer Zeitung. 2009 Jan 7; Nr. 1/2:2.

Anon. Entscheidung 94/381/EG der Kommission vom 27. Juni 1994 über Schutzmaßnahmen in Bezug auf die spongiforme Rinderenzephalopathie und die Verfütterung von aus Säugetieren gewonnenen Futtermitteln. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 172 (07.Jul. 1994).

Anon. Entscheidung 97/534/EG der Kommission vom 30. Juli 1997 über das Verbot der Verwendung von Material angesichts der Möglichkeit der Übertragung transmissibler spongiformer Enzephalopathien. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 216 (08. Aug. 1997).

Anon. Entscheidung 2000/766/EG des Rates vom 4. Dezember 2000 über Schutzmaßnahmen in Bezug auf die transmissiblen spongiformen Enzephalopathien und die Verfütterung von tierischem Protein. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 306 (07. Dez. 2000a).

Anon. Entscheidung 2000/418/EG der Kommission vom 29 Juni 2000 zur Regelung der Verwendung von bestimmtem Tiermaterial angesichts des Risikos der Übertragung von TSE-Erregern und zur Änderung der Entscheidung 94/474/EG, aufgehoben durch die die Verordnung (EG) Nr. 1326/2001 der Kommission vom 29. Juni 2001. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 158/76 (30. Jun. 2000b) und L 177/60 (30. Jun. 2001).

Anon. Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. Nov. 2004. Bundesgesetzblatt I S.2764 (3. Nov. 2004).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des europäischen Parlamentes und des Rates vom 22. Mai 2001 mit Vorschriften zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 147 (31. Mai. 2001).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 31 (01. Feb. 2002a).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 3. Oktober 2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 273 (10. Okt. 2002b).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 139 (30. Apr. 2004).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 214/2005 der Kommission vom 9. Februar 2005 zur Änderung des Anhangs III der Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Überwachung von Ziegen auf transmissible spongiforme Enzephalopathien. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 37 (10. Feb. 2005).

Anon. Entscheidung 2008/908/EG der Kommission vom 28. November 2008 zur Ermächtigung bestimmter Mitgliedstaaten, ihr jährliches BSE-Überwachungsprogramm zu überarbeiten. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 327 (05. Dez. 2008).

Arnold ME, Ryan JB, Konold T, Simmons MM, Spencer YI, Wear A, et al. Estimating the temporal relationship between PrP<sup>Sc</sup> detection and incubation period in experimental bovine spongiform encephalopathy of cattle. J Gen Virol. 2007; 88(Pt 11):3198-3208.

Asari M, Kano Y, Wakui S, Nishita T, Matsushita H, Oshige H. The ultrastructure of bovine ileal follicle-associated epithelial (FAE) cells during the perinatal period. J Anat. 1989; 163:7-16.

Azzali G. Structure, lymphatic vascularization and lymphocyte migration in mucosa-associated lymphoid tissue. *Immunol Rev.* 2003; 195:178-189.

Bader F, Davis G, Dinowitz M, Garfinkle B, Harvey J, Kozak R, et al. Assessment of risk of bovine spongiform encephalopathy in pharmaceutical products, Part 1. *BioPharm.* 1998; 11(1):20-31.

Barman NN, Bianchi AT, Zwart RJ, Pabst R, Rothkotter HJ. Jejunal and ileal Peyer's patches in pigs differ in their postnatal development. *Anat Embryol. (Berl)* 1997; 195(1):41-50.

Barr WG, Challacombe SJ, Yem A, Tomasi TB. The Accessory Cell-Function of Murine Peyers Patches. *Cell Immunol.* 1985; 92(1):41-52.

Bartz JC, Kincaid AE, Bessen RA. Rapid prion neuroinvasion following tongue infection. *J Virol.* 2003; 77(1):583-91.

Bateman D, Hilton D, Love S, Zeidler M, Beck J, Collinge J. Sporadic Creutzfeldt-Jakob-Disease in a 18-Year-Old in the Uk. *Lancet* 1995; 346(8983):1155-56.

Beekes M, McBride PA. The spread of prions through the body in naturally acquired transmissible spongiform encephalopathies. *Febs J.* 2007; 274(3):588-605.

Beier R, Gebert A. Kinetics of particle uptake in the domes of Peyer's patches. *Am J Physiol.* 1998; 275(1 Pt 1):G130-G7.

Benestad SL, Sarradin P, Thu B, Schonheit J, Tranulis MA, Bratberg B. Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec.* 2003; 153(7):202-8.

Benestad SL, Braterg B. Atypical Scrapie-Nor98. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prions in Humans and Animals.* 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 630-34.

Beeskow P. Die Darmbearbeitung. 1. Auflage. Frankfurt-M./Berlin: Verlag Allgemeine Fleischer-Zeitung Berlin-Frankfurt-M.;1950.

Beutling DM. Lehrbuch der Schlachtier- und Fleischuntersuchung. 1. Auflage. Stuttgart: Parey Verlag; 2004.

Beyaz F, Asti RN. Development of Ileal Peyer's patches and follicle associated epithelium in bovine foetuses. Anat Histol Embryol. 2004; 33(3):172-9.

Biacabe AG, Laplanche JL, Ryder S, Baron T. Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. Embo Rep. 2004; 5(1):110-4.

Biacabe AG, Morignat E, Win J, Calavas D, Baron TGM. Atypical bovine spongiform encephalopathies, France, 2001-2007. Emerg Infect Dis. 2008; 14(2):298-300.

Bienenstock J, Befus AD. Mucosal immunology. Immunology 1980; 41(2):249-70.

Bienenstock J. The mucosal immunologic network. Ann Allergy 1984; 53(6Pt 2):535-40.

Blaschke V, Micheel B, Pabst R, Westermann J. Lymphocyte Traffic Through Lymph-Nodes and Peyers-Patches of the Rat - B-Cell-Specific and T-Cell-Specific Migration Patterns Within the Tissue, and Their Dependence on Splenic Tissue. Cell Tissue Res. 1995; 282(3):377-86.

Bons N, Mestre-Frances N, Belli P, Cathala F, Gajdusek DC, Brown P. Natural and experimental oral infection of nonhuman primates by bovine spongiform encephalopathy agents. Proc Natl Acad Sci. 1999; 96(7):4046-51.

Bossers A, Schreuder BEC, Muileman IH, Belt PBGM, Smits MA. PrP genotype contributes to determining survival times of sheep with natural scrapie. J Gen Virol. 1996; 77:2669-73.



Bradley R, Collee JG, Liberski PP. Variant CJD (vCJD) and bovine spongiform encephalopathy (BSE): 10 and 20 years on: part 1. *Folia Neuropathol.* 2006; 44(2):93-101.

Breidenbach E, Hauser R, Stark K. Die Durchführung von Risikoanalysen am Bundesamt für Veterinärwesen. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2004; 117(5-6):171-6.

Britton TC, al Sarraj S, Shaw C, Campbell T, Collinge J. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a 16-year-old in the UK. *Lancet* 1995; 346(8983):1155.

Brown DA, Bruce ME, Fraser JR. Comparison of the neuropathological characteristics of bovine spongiform encephalopathy (BSE) and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) in mice. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2003; 29(3):262-72.

Brown P, Cathala F, Raubertas RF, Gajdusek DC, Castaigne P. The Epidemiology of Creutzfeldt-Jakob Disease - Conclusion of a 15-Year Investigation in France and Review of the World Literature. *Neurology* 1987; 37(6):895-904.

Brown P, Gajdusek DC. Survival of scrapie virus after 3 years' interment. *Lancet* 1991; 337(8736):269-70.

Brown P. The Phenotypic-Expression of Different Mutations in Transmissible Human Spongiform Encephalopathy. *Rev Neurol.* 1992; 148(5):317-27.

Brown P, Gibbs CJ, Jr., Rodgers-Johnson P, Asher DM, Sulima MP, Bacote A, et al. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann Neurol.* 1994; 35(5):513-29.

Brown P. On the origins of BSE. *Lancet* 1998; 352(9124):252-53.

Bruce M, Chree A, McConnell I, Foster J, Pearson G, Fraser H. Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1994; 343(1306):405-11.

Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, et al. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; 389(6650):498-501.

Bruce ME, Boyle A, Cousens S, McConnell I, Foster J, Goldmann W, et al. Strain characterization of natural sheep scrapie and comparison with BSE. *J Gen Virol.* 2002; 83(Pt 3):695-704.

Bryant G, Monk P. Herausgeber. Summary of the Final Report of the Investigation into the North Leicestershire Cluster of Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (Internet). Leicester: Leicestershire NHS Health Authority; 2001 (zitiert vom 11.07.2009). Erhältlich unter: <http://www.cbsnews.com/htdocs/pdf/vcjd.pdf>.

Budka H. Portrait der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD). In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prionen und Prionenkrankheiten*. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2001. S. 147-51.

Budka H, Dormont D, Kretzschmar H, Pocchiari M, van Duijn C. BSE and variant Creutzfeldt-Jakob disease: never say never. *Acta Neuropathol.* 2002; 103(6):627-28.

Budka H. Neuropathology of prion diseases. *Br Med Bull.* 2003; 66:121-30.

Budka H. Portrait of Creutzfeldt-Jakob Disease. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prions in Humans and Animals*. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 195-203.

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) 2009. Die Gründung des BVL: Startschuss für umfassenden Verbraucherschutz und eine bessere Koordination der Lebensmittelsicherheit (zitiert vom 26.07.2009):1, [http://www.bvl.bund.de/cln\\_027/nn\\_494194/DE/07\\_DasBundesamt/021\\_Geschichte/geschichte.html\\_nnn=true](http://www.bvl.bund.de/cln_027/nn_494194/DE/07_DasBundesamt/021_Geschichte/geschichte.html_nnn=true).

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) 2001. Ausweitung der Definition für specific risk material (SRM) - Stellungnahme des BgVV vom 8. Januar 2001 (zitiert vom 28.07.2009):1-2,  
[http://www.bfr.bund.de/cm/208/ausweitung\\_der\\_definition\\_fuer\\_specific\\_risk\\_material\\_srm.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/ausweitung_der_definition_fuer_specific_risk_material_srm.pdf).

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) 2005. BSE 2005 – Überblick über Daten und Maßnahmen (zitiert vom 27.07.2009):1-14,  
<http://www.bmelv.de/cae/servlet/contentblob/382912/publicationFile/22278/5JahreBSE.pdf>.

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) 2009a. Anzahl der bestätigten BSE-Fälle in Deutschland (zitiert vom 24.11.2009):  
[http://www.bmelv.de/cln\\_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tiergesundheit/BSE/BSE-FaelleDeutschland.html](http://www.bmelv.de/cln_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tiergesundheit/BSE/BSE-FaelleDeutschland.html).

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) 2009b. Anzahl der bestätigten Scrapie-Fälle in Deutschland seit 1990 (zitiert vom 24.11.2009):  
[http://www.bmelv.de/cln\\_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tiergesundheit/Scrapie/TSE-FaelleGesamt.html?nn=432826](http://www.bmelv.de/cln_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tiergesundheit/Scrapie/TSE-FaelleGesamt.html?nn=432826).

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2003. Anhebung der Altersgrenze für BSE-Tests bei Schlachtrindern von 24 auf 30 Monate - Stellungnahme des BfR vom 22. Dezember 2003 (zitiert vom 28.07.2009):1-8,  
[http://www.bfr.bund.de/cm/208/anhebung\\_der\\_altersgrenze\\_fuer\\_bse\\_tests.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/anhebung_der_altersgrenze_fuer_bse_tests.pdf).

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2005. Fragen und Antworten zum Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)-Konzept (zitiert vom 01.07.2009):1-6,

[http://www.bfr.bund.de/cm/234/fragen\\_und\\_antworten\\_zum\\_hazard\\_analysis\\_and\\_critical\\_control\\_point\\_haccp\\_konzept.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/234/fragen_und_antworten_zum_hazard_analysis_and_critical_control_point_haccp_konzept.pdf).

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2006. Wiedenzulassung der Verfütterung tierischer Fette von Wiederkäuern an Wiederkäuer birgt BSE-Risiko für den Verbraucher - Gemeinsame Stellungnahme Nr. 010/2006 des BfR und des Friedrich-Loeffler-Instituts vom 9. Februar 2006 (zitiert vom 26.07.2009):1-15, [http://www.bfr.bund.de/cm/208/wiedenzulassung\\_der\\_verfuetterung\\_tierischer\\_fette\\_von\\_wiederkaeuern\\_an\\_wiederkaeuer\\_birgt\\_bse\\_risiko\\_fuer\\_den\\_verbraucher.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/wiedenzulassung_der_verfuetterung_tierischer_fette_von_wiederkaeuern_an_wiederkaeuer_birgt_bse_risiko_fuer_den_verbraucher.pdf).

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2007. Leitfaden für gesundheitliche Bewertungen (zitiert vom 01.07.2009):1-14, [http://www.bfr.bund.de/cm/221/bfr\\_leitfaden\\_fuer\\_gesundheitliche\\_bewertungen.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/221/bfr_leitfaden_fuer_gesundheitliche_bewertungen.pdf).

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2008. Theorie und Praxis der Risikokommunikation (zitiert vom 29.07.2009):1, <http://www.bfr.bund.de/cd/27450>.

Buschmann A, Biacabe AG, Ziegler U, Bencsik A, Madec JY, Erhardt G, et al. Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. J Virol Methods. 2004; 117(1):27-36.

Buschmann A, Groschup MH. Highly bovine spongiform encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. J Infect Dis. 2005; 192(5):934-42.

Buschmann A, Gretzschel A, Biacabe AG, Schiebel K, Corona C, Hoffmann C, et al. Atypical BSE in Germany-Proof of transmissibility and biochemical characterization. Vet Microbiol. 2006;117:103-16.

Buschmann A, Hoffmann C, Eiden M, Gretzschel A, Ziegler U, Groschup MH. Übertragbare spongiforme Enzephalopathien bei Tieren - ein Update. Tierärztl Prax. 2008;36 Suppl 1:S15-9.

Buschmann A, Hoffmann C, Eiden M, Groschup MH. Transmissible spongiforme Encephalopathien (TSE). In: Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Herausgeber. Tiergesundheitsjahresbericht 2008. Dresden: Poly-Druck Dresden GmbH; 2009. S. 89-93.

Capucchio MT, Guarda F, Pozzato N, Coppolino S, Caracappa S, DiMarco V. Clinical signs and diagnosis of scrapie in Italy: a comparative study in sheep and goats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2001; 48(1):23-31.

Carlens O. Studien über das lymphatische Gewebe des Darmkanals bei einigen Haustieren, mit besonderer Berücksichtigung der embryonalen Entwicklung, der Mengenverhältnisse und der Altersinvolution dieses Gewebes im Dünndarm des Rindes. *Z Anat Entwicklungsgesch.* 1928;86:393-493.

Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, et al. Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Proc Natl Acad Sci.* 2004; 101(9):3065-70.

Cervenakova L, Goldfarb LG, Garruto R, Lee HS, Gajdusek DC, Brown P. Phenotype-genotype studies in kuru: Implications for new variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998; 95(22):13239-41.

Chadeau-Hyam M, Alperovitch A. Risk of variant Creutzfeldt-Jakob disease in France. *Int J Epidemiol.* 2005; 34(1):46-52.

Collee JG, Bradley R. BSE: a decade on-Part I. *Lancet* 1997; 349(9052):636-41.

Collee JG, Bradley R, Liberski PP. Variant CJD (vCJD) and Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE): 10 and 20 years on: part 2. *Folia Neuropathol.* 2006; 44(2):102-10.

Collinge J, Palmer MS, Dryden AJ. Genetic Predisposition to Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Lancet* 1991; 337(8755):1441-2.

Collinge J, Brown J, Hardy J, Mullan M, Rossor MN, Baker H, et al. Inherited prion disease with 144 base pair gene insertion. 2. Clinical and pathological features. *Brain* 1992; 115 (Pt 3):687-710.

Collinge J, Sidle KCL, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996; 383(6602):685-90.

Collinge J. Human prion diseases and bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Hum Mol Genet.* 1997; 6(10):1699-1705.

Collinge J. Variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1999; 354(9175):317-23.

Collins SJ, Lawson VA, Masters CL. Transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet* 2004; 363(9402):51-61.

Comer PJ, Huntly PJ. TSE risk assessments: a decision support tool. *Stat Methods Med Res.* 2003; 12(3):279-91.

Comer PJ, Huntly PJ. Exposure of the human population to BSE infectivity over the course of the BSE epidemic in Great Britain and the impact of changes to the Over Thirty Month Rule. *J Risk Res.* 2004; 7(5):523-43.

Cooper JD, Bird SM. Predicting incidence of variant Creutzfeldt-Jakob disease from UK dietary exposure to bovine spongiform encephalopathy for the 1940 to 1969 and post-1969 birth cohorts. *Int J Epidemiol.* 2003; 32(5):784-91.

Corr SC, Gahan CCGM, Hill C. M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *Fems Immunol Med Microbiol.* 2008; 52(1):2-12.

Cousens S, Smith PG, Ward H, Everington D, Knight RSG, Zeidler M, et al. Geographical distribution of variant Creutzfeldt-Jakob disease in Great Britain, 1994-2000. *Lancet* 2001; 357(9261):1002-7.

Cousens SN, Vynnycky E, Zeidler M, Will RG, Smith PG. Predicting the CJD epidemic in humans. *Nature* 1997; 385(6613):197-8.

Dalsgaard NJ. Prion diseases. An overview. *APMIS* 2002; 110(1):3-13.

Dawson M, Hoinville LJ, Hosie BD, Hunter N. Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical scrapie. Scrapie Information Group. *Vet Rec.* 1998; 142(23):623-5.

de Motes CM, Simon S, Grassi J, Torres JM, Pumarola M, Girones R. Assessing the presence of BSE and scrapie in slaughterhouse wastewater. *J Appl Microbiol.* 2008; 105(5):1649-57.

Defaweux V, Dorban G, Demonceau C, Piret J, Jolois O, Thellin O, et al. Interfaces between dendritic cells, other immune cells, and nerve fibres in mouse Peyer's patches: potential sites for neuroinvasion in prion diseases. *Microsc Res Tech.* 2005; 66(1):1-9.

Dellmann HD. *Textbook of Veterinary Histology.* 4. Edition. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993.

des Rieux A, Ragnarsson EG, Gullberg E, Preat V, Schneider YJ, Artursson P. Transport of nanoparticles across an in vitro model of the human intestinal follicle associated epithelium. *Eur J Pharm Sci.* 2005; 25(4-5):455-65.

Detwiler LA, Baylis M. The epidemiology of scrapie. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 2003; 22(1):121-43.

Deutscher Fleischer-Verband (DFV) 2009. Verzehr von Fleischerzeugnissen (zitiert vom 06.12.2009):34-7,

[http://www.fleischerhandwerk.de/upload/pdf/GB2009\\_VerzehrFleischerzeugnisse.pdf](http://www.fleischerhandwerk.de/upload/pdf/GB2009_VerzehrFleischerzeugnisse.pdf).

Doughri AM, Altera KP, Kainer RA. Some Developmental Aspects of Bovine Fetal Gut. *Zentralbl Veterinarmed. A* 1972; 19(5):417-34.



Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Anatomie der Haustiere. Lehrbuch für Studium und Praxis. Paperback-Sonderausgabe der 1. Auflage. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 1997.

Eloit M, Adjou K, Couplier M, Fontaine JJ, Hamel R, Lilin T, et al. BSE agent signatures in a goat. Vet Rec. 2005; 156(16):523-4.

Elsen JM, Amigues Y, Schelcher F, Ducrocq V, Andreoletti O, Eychenne F, et al. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. Arch Virol. 1999; 144(3):431-45.

Espinosa JC, Morales M, Castilla J, Rogers M, Torres JM. Progression of prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiform encephalopathy challenge. J Gen Virol. 2007; 88(Pt 4):1379-83.

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) 2004. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards of the European Food Safety Authority on BSE risk from bovine tonsil and consumption of bovine tongue (zitiert vom 24.11.2009):1-4, [http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific Opinion/opinion\\_biohaz\\_06\\_en1.pdf?ssbinary=true](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific%20Opinion/opinion_biohaz_06_en1.pdf?ssbinary=true).

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) 2005a. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on classification of atypical Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) cases in Small Ruminants (zitiert vom 24.11.2009):1-30, <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/276.pdf>.

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) 2005b. Quantitative Assessment of the residual BSE risk in bovine-derived products (zitiert vom 06.10.2008):1-135, <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/s307.pdf>.

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) 2007. Opinion on quantitative histological studies and the re-assessment of the BSE related risk of

bovine intestines after processing into natural sausage casings (zitiert vom 26.07.2009):1-14,

[http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/biohaz\\_op\\_ej464\\_bovine\\_casings\\_en.3.pdf](http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/biohaz_op_ej464_bovine_casings_en.3.pdf).

Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) 2009. Scientific Opinion on BSE Risk in Bovine Intestines (zitiert vom 26.11.2009):1-19,

[http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/biohaz\\_op\\_1317\\_bovine\\_intestines\\_en.pdf](http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/biohaz_op_1317_bovine_intestines_en.pdf).

Europäische Kommission (EC) 2001. Report on the monitoring and testing of bovine animals for the presence of Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) in 2001 (zitiert vom 10.11.2009):1-40,

[http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/bse45\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/bse45_en.pdf).

Europäische Kommission (EC) 2005. Fahrplan für die TSE-Bekämpfung (zitiert vom 23.11.2009):1-26, [http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/roadmap\\_de.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/roadmap_de.pdf).

Europäische Kommission (EC) 2006. Report on the monitoring and testing of ruminants for the presence of transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in the EU in 2006 (zitiert vom 10.11.2009):1-106,

[http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/annual\\_report\\_tse2006\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/annual_report_tse2006_en.pdf).

Feder U. Zur Anatomie des darmassoziierten Immunsystems bei Haussäugetieren [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilians-Univ. München; 1999.

Fiocchi C. Mucosal Immunity. Gastroenterol. Int. 1989; 2 (3):172-79.

Floer WM. Charakterisierung der Assoziation von Lymphozytensubpopulationen und der Kinetik der M-Zell Formation im Follikel-assoziierten Epithel bei Ratten mit Indomethazin-induzierter Ileitis [Dissertation med]. Münster: Univ. Münster; 2003.

Foster JD, Hope J, Fraser H. Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. Vet Rec. 1993; 133(14):339-41.

Foster PR. Prions and blood products. *Ann Med.* 2000; 32(7):501-13.

Fraser H, Bruce ME, Chree A, McConnell I, Wells GA. Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice. *J Gen Virol.* 1992; 73 (Pt 8):1891-7.

Friess AE, Schlüns J. Das Immunsystem und die Organe der Abwehr. In: Mosimann W, Kohler T. Herausgeber. *Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere.* 1. Auflage. Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey; 1990. S. 114-41.

Gale P, Young C, Stanfield G, Oakes D. Development of a risk assessment for BSE in the aquatic environment. *J Appl Microbiol.* 1998; 84(4):467-77.

Gebert A, Goke M, Rothkotter HJ, Dietrich CF. Mechanisms of antigen uptake in the small and large intestine: The role of M cells in the initiation of immune reactions. *Z Gastroenterol.* 2000; 38(10):855-72.

Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Hagenaars TJ, Anderson RM. Epidemiological determinants of the pattern and magnitude of the vCJD epidemic in Great Britain. *Proc Biol Sci.* 1998; 265(1413):2443-52.

Ghani AC, Donnelly CA, Ferguson NM, Anderson RM. Assessment of the prevalence of vCJD through testing tonsils and appendices for abnormal prion protein. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences* 2000; 267(1438):23-9.

Ghani AC, Donnelly CA, Ferguson NM, Anderson RM. Updated projections of future vCJD deaths in the UK. *BMC Infect Dis.* 2003; 3.

Ghosh S. Intestinal entry of prions. *Z Gastroenterol.* 2002; 40(1):37-9.

Glatzel M, Aguzzi A. Peripheral pathogenesis of prion diseases. *Microbes Infect* 2000; 2(6):613-619.

Goldmann W, Martin T, Foster J, Hughes S, Smith G, Hughes K, et al. Novel polymorphisms in the caprine PrP gene: a codon 142 mutation associated with scrapie incubation period. J Gen Virol. 1996; 77 (Pt 11):2885-91.

Griebel PJ, Hein WR. Expanding the role of Peyer's patches in B-cell ontogeny. Immunol Today 1996; 17(1):30-9.

Grobben AH, Steele PJ, Somerville RA, Taylor DM, Schreuder BEC. Inactivation of the BSE agent by the heat and pressure process for manufacturing gelatine. Vet Rec. 2005; 157(10):277-81.

Grobben AH, Steele PJ, Somerville RA, Taylor DM. Inactivation of BSE infectivity on chips of bone by autoclaving during the manufacture of gelatine. Vet Rec. 2006; 158(3):94-6.

Groschup MH, Weiland F, Straub OC, Pfaff E. Detection of scrapie agent in the peripheral nervous system of a diseased sheep. Neurobiol Dis. 1996; 3(3):191-5.

Groschup MH, Stolze A. Transmissible spongiforme Enzephalopathie (BSE und Scrapie). In: Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMELV). Herausgeber. Tiergesundheitsjahresbericht 2000. Bonn; 2002. S. 77-80.

Groschup MH, Hörnlimann B, Buschmann A. Iatrogenic and "Natural" Transmissibility of Prion Diseases. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006.

Groschup MH, Hoffmann C, Selhorst T, Conraths F, Buschmann A. Bovine Spongiforme Enzephalopathie - gesundheitlicher Verbraucherschutz beginnt beim Tier. Sonderausgabe Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, Programm- und Abstract-Band zur 49. Arbeitstagung der DVG; 2008 Sep Oct 29-2; Garmisch Partenkirchen, Deutschland. Lampertheim: Verlag Alpha Informations-GmbH; 2008. S. 82.

Gurrath P. Vom Erzeuger zum Verbraucher - Fleischversorgung in Deutschland Ausgabe 2008 (Internet). Statistisches Bundesamt Wiesbaden: SFG Servicecenter Fachverlage; 2008 (zitiert vom 19.03.2009). Erhältlich unter:

[http://www.v-d-f.de/download/SAVE/statistisches\\_bundesamt\\_fleischversorgung](http://www.v-d-f.de/download/SAVE/statistisches_bundesamt_fleischversorgung).

Haase B, Doherr MG, Seuberlich T, Drogemüller C, Dolf G, Nicken P, et al. PRNP promoter polymorphisms are associated with BSE susceptibility in Swiss and German cattle. BMC Genet. 2007; 8.

Haywood AM. Transmissible spongiform encephalopathies. N Engl J Med. 1997; 337(25):1821-8.

Hebel R. Untersuchungen über das Vorkommen von lymphatischen Darmkrypten in der Tunica submukosa des Darmes von Schwein, Rind, Schaf, Hund und Katze. Anat Anz. 1960; 109:7-27.

Heel KA, McCauley RD, Padadimitriou JM, Hall JC. Peyer's patches. J Gastroenterol Hepatol. 1997; 12(2):122-36.

Heeschen W. Die wichtigsten Antworten zur Lebensmittelhygiene. 1. Auflage. Hamburg: Behr's Verlag; 2008.

Heim D, Kihm U. Risk management of transmissible spongiform encephalopathies in Europe. Rev Sci Tech. 2003; 22(1):179-99.

Heim D, Maurer E, Doherr MG. Transmissible spongiforme Enzephalopathien bei Schafen und Ziegen. Schweiz Arch Tierheilkd. 2002; 144 (12):675-83.

Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Varges D, Kallenberg K, Schulz-Schaeffer WJ, et al. Creutzfeldt-Jakob disease in Germany: a prospective 12-year surveillance. Brain 2007; 130:1350-9.

Heppner FL, Christ AD, Klein MA, Prinz M, Fried M, Kraehenbühl JP, et al. Transepithelial prion transport by M cells. Nat Med. 2001; 7(9):976-7.

Hertel RF, Henseler G. Herausgeber. ERiK – Entwicklung eines mehrstufigen Verfahrens der Risikokommunikation (Internet). Berlin: BfR-Hausdruckerei Dahlem; 2005 (zitiert vom 02.08.2009). Erhältlich unter: [http://www.bfr.bund.de/cm/238/erik\\_entwicklung\\_eines\\_mehrstufigen\\_verfahrens\\_der\\_risikokommunikation.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/238/erik_entwicklung_eines_mehrstufigen_verfahrens_der_risikokommunikation.pdf).

Hewicker-Trautwein M, Bradley R. Portrait of Transmissible Feline Spongiform Encephalopathy. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 271-4.

Hildebrand G. Qualitätssicherung und präventiver Gesundheitsschutz. In: Sinell HJ. Herausgeber. Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4., neu bearbeitete Auflage. Stuttgart: Parey Verlag; 2004. S. 220-40.

Hill AF, Desbruslais M, Joiner S, Sidle KC, Gowland I, Collinge J, et al. The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 1997a; 389(6650):448-50.

Hill AF, Zeidler M, Ironside J, Collinge J. Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy. *Lancet* 1997b; 349(9045):99-100.

Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, Jackson G, Rossor MN, Thomas DJ, et al. Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999; 353(9148):183-9.

Hilton DA. Pathogenesis and prevalence of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Pathol.* 2006; 208(2):134-41.

Hoffmann C, Ziegler U, Buschmann A, Weber A, Kupfer L, Oelschlegel A, et al. Prions spread via the autonomic nervous system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine spongiform encephalopathy. *J Gen Virol.* 2007; 88(Pt 3):1048-55.

Hofstädter D, Grossgut R. Risikobewertung. Das 1x1 der wissenschaftlichen Bewertung von gesundheitlichen Risiken. 2006 (zitiert vom 02.08.2009):3-5, ISSN 1029-9823 [http://www.veoe.org/uploads/einblicke/einblicke\\_4\\_06.pdf](http://www.veoe.org/uploads/einblicke/einblicke_4_06.pdf).

Houben JH. A survey of dry-salted natural casings for the presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and sulphite-reducing *Clostridium* spores. Food Microbiol. 2005; 22(2-3):221-5.

Hunter N, Goldmann W, Smith G, Hope J. Frequencies of PrP Gene Variants in Healthy Cattle and Cattle with BSE in Scotland. Vet Rec. 1994; 135(17):400-3.

Hunter N, Foster JD, Goldmann W, Stear MJ, Hope J, Bostock C. Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes. Arch Virol. 1996; 141(5):809-24.

Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H, Will RG, MacDiarmid SC, Wells GAH, et al. Historical Introduction. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin New York: de Gruyter; 2006a. S. 3-27.

Hörnlimann B, vanKeulen L, Ulvund MJ, Bradley B. Portrait of Scrapie in Sheep and Goat. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin New York: de Gruyter; 2006b. S. 222-32.

Hörnlimann B, Bachmann J, Bradley R. Portrait of Bovine Spongiform Encephalopathy in Cattle and Other Ungulates. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin New York: de Gruyter; 2006c. S. 233-49.

Hörnlimann B, Doherr MG, Matthews D, MacDiarmid SC. Introduction to Surveillance for Animal Prion Diseases. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin New York: de Gruyter; 2006d:382-88.



Iwata N, Sato Y, Higuchi Y, Nohtomi K, Nagata N, Hasegawa H, et al. Distribution of PrP<sup>Sc</sup> in cattle with bovine spongiform encephalopathy slaughtered at abattoirs in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2006; 59(2):100-7.

Jeffrey M, Gonzalez L, Espenes A, Press CM, Martin S, Chaplin M, et al. Transportation of prion protein across the intestinal mucosa of scrapie-susceptible and scrapie-resistant sheep. *J Pathol.* 2006; 209(1):4-14.

Johnson RT, Gibbs CJ, Jr. Creutzfeldt-Jakob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med.* 1998; 339(27):1994-2004.

Johnson RT. Prion diseases. *Lancet Neurol.* 2005; 4(10):635-42.

Joiner S, Linehan JM, Brandner S, Wadsworth JD, Collinge J. High levels of disease related prion protein in the ileum in variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Gut* 2005; 54(10):1506-8.

Juling K, Schwarzenbacher H, Williams JL, Fries R. A major genetic component of BSE susceptibility. *BMC Biol.* 2006; 4:33.

Kashkevich K, Humeny A, Ziegler U, Groschup MH, Nicken P, Leeb T, et al. Functional relevance of DNA polymorphisms within the promoter region of the prion protein gene and their association to BSE infection. *FASEB J.* 2007; 21(7):1547-55.

Kawanishi H, Kiely J. Immune-Related Alterations in Aged Gut-Associated Lymphoid-Tissues in Mice. *Dig Dis Sci.* 1989; 34(2):175-84.

Knight R. The relationship between new variant Creutzfeldt-Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. *Vox Sang.* 1999; 76(4):203-8.

Koch H, Fuchs M. Die Fabrikation feiner Fleisch- und Wurstwaren. 21., völlig neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Frankfurt am Main: Deutscher Fachverlag GmbH; 2004.

Kong Q, Zheng M, Casalone C, Qing L, Huang S, Chakraborty B, et al. Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain. *J Virol*. 2008; 82(7):3697-701.

Koolmees PA. Histology of bovine natural casings. VVDO report 9806. Utrecht, (Netherlands): Univ. Utrecht; 1998.

Koolmees PA, Tersteeg MH, Keizer G, van den BJ, Bradley R. Comparative histological studies of mechanically versus manually processed sheep intestines used to make natural sausage casings. *J Food Prot*. 2004; 67(12):2747-55.

Kovacs GG, Puopolo M, Ladogana A, Pocchiari M, Budka H, van Duijn C, et al. Genetic prion disease: the EUROCCJD experience. *Hum Genet*. 2005; 118(2):166-74.

Kraehenbuhl JP, Neutra MR. Molecular and Cellular Basis of Immune Protection of Mucosal Surfaces. *Physiol Rev*. 1992; 72(4):853-79.

Landsverk T. The Epithelium Covering Peyers Patches in Young Milk-Fed Calves - An Ultrastructural and Enzyme Histochemical Investigation. *Acta Vet Scand*. 1981a; 22(2):198-210.

Landsverk T. Peyer's patches and the follicle-associated epithelium in diarrheic calves. Pathomorphology, morphometry and acid phosphatase histochemistry. *Acta Vet Scand*. 1981b; 22(3-4):459-71.

Landsverk T, Halleraker M, Aleksandersen M, McClure S, Hein W, Nicander L. The Intestinal Habitat for Organized Lymphoid-Tissues in Ruminants - Comparative Aspects of Structure, Function and Development. *Vet Immunol Immunopathol*. 1991; 28(1):1-16.

Lasmezas CI, Deslys JP, Demaimay R, Adjou KT, Lamoury F, Dormont D, et al. BSE transmission to macaques. *Nature* 1996; 381(6585):743-44.

Lasmezas CI, Fournier JG, Nouvel V, Boe H, Marce D, Lamoury F, et al. Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with

Creutzfeldt-Jakob disease: Implications for human health. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2001; 98(7):4142-7.

Leatherhead Food Research Association (LFRA) and the Meat and Livestock Commission (MLC). Audit of Bovine and Ovine Slaughter and by-Products Sector. Project No. CMF14; 1997.

Lee HS, Brown P, Cervenakova L, Garruto RM, Alpers MP, Gajdusek DC, et al. Increased susceptibility to Kuru of carriers of the PRNP 129 methionine/methionine genotype. J Infect Dis. 2001; 183(2):192-6.

Leitsätze des Deutschen Lebensmittelbuchs für Fleisch und Fleischerzeugnisse. (zitiert 14.04.2009):1-68,  
<http://www.bmelv.de/cae/servlet/contentblob/379764/publicationFile/22010/LeitsaetzeFleisch.pdf>.

Lie KI, Aleksandersen M, Landsverk T. Lymphoid follicles of different phenotype appear in ileum during involution of the sheep ileal Peyer's patch. Dev Comp Immunol. 2005; 29(6):539-53.

Liebich HG. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 3. Auflage. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 1999.

Liebler EM, Pohlenz JF, Woode GN. Gut-Associated Lymphoid-Tissue in the Large-Intestine of Calves .1. Distribution and Histology. Vet Pathol. 1988; 25(6):503-8.

Liebler-Tenorio EM. Untersuchungen zur Anzahl, Verteilung und Ausdehnung der schleimhauteigenen Solitärfollikel und Peyerschen Platten im Dünndarm des Kalbes unter besonderer Berücksichtigung ihrer Oberflächenstruktur [Dissertation med. vet]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1985.

Löwer J, Kreil TR. Risk Assessment of Transmitting Prion Diseases through Blood, Cornea, and Dura Mater. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausge-

ber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 579-600.

Lücker E. Maßnahmen und Alternativen zur Reduzierung des humanen BSE-Expositionsrisikos. Nova Acta Leopold. 2006; 94 (347):167-81.

Lücker E. Methodologies for the Detection of BSE Risk Material in Meat and Meat Products. In: Toldrá F. Herausgeber. Safety of Meat and Processed Meat. 1. Auflage. Berlin:Springer Verlag; 2009. S. 499-514.

Mabbott NA, MacPherson GG. Prions and their lethal journey to the brain. Nat Rev Microbiol. 2006; 4(3):201-11.

McCrea D. Risk communication of the transmissible spongiform encephalopathies. Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties 2003; 22(1):251-7.

McDermott MR, Bienenstock J. Evidence for A Common Mucosal Immunological System .1. Migration of B Immunoblasts Into Intestinal, Respiratory, and Genital Tissues. J Immunol. 1979; 122(5):1892-8.

Mishra RS, Basu S, Gu Y, Luo X, Zou WQ, Mishra R, et al. Protease-resistant human prion protein and ferritin are cotransported across Caco-2 epithelial cells: implications for species barrier in prion uptake from the intestine. J Neurosci. 2004; 24(50):11280-90.

Morfitt DC, Pohlenz JF. Porcine colonic lymphoglandular complex: distribution, structure, and epithelium. Am J Anat. 1989; 184(1):41-51.

Moum T, Olsaker I, Hopp P, Moldal T, Valheim M, Moum T, et al. Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. J Gen Virol. 2005; 86(Pt 1):231-5.

Moynagh J, Schimmel H. Tests for BSE evaluated. Nature 1999; 400(6740):105.

Mutwiri G, Watts T, Lew L, Beskorwayne T, Papp Z, Baca-Estrada ME, et al. Ileal and jejunal Peyer's patches play distinct roles in mucosal immunity of sheep. *Immunol.* 1999; 97(3):455-61.

Nau H, Steinberg P, Kietzmann M. *Lebensmitteltoxikologie. Rückstände und Kontaminanten: Risiken und Verbraucherschutz.* 1. Auflage. Berlin, Wien: Blackwell Verlag GmbH; 2003.

Neutra MR, Pringault E, Kraehenbuhl JP. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1996; 14:275-300.

Neutra MR, Frey A, Kraehenbuhl JP. Epithelial M cells: Gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* 1996; 86(3):345-8.

Nickel R, Schummer E, Seiferle E. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band IV: Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen.* 3., neubearbeitete Auflage. Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey; 1992.

Nickel R, Schummer E, Seiferle E. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band IV: Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen.* Böhme G. Herausgeber. 4., unveränderte Auflage. Stuttgart: Verlag Paul Parey; 2004.

Oberthür RC, Bram E, Schreuder E, Koeijer AA. Die Risikoeinschätzung und –minimierung von BSE. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prionen und Prionenkrankheiten.* 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2001. S. 457-69.

O'Leary AD, Sweeney EC. Lymphoglandular Complexes of the Colon - Structure and Distribution. *Histopathology* 1986; 10(3):267-83.

Owen RL, Jones AL. Epithelial-Cell Specialization Within Human Peyers Patches - Ultrastructural Study of Intestinal Lymphoid Follicles. *Gastroenterology* 1974; 66(2):189-203.

Owen RL. Sequential Uptake of Horseradish-Peroxidase by Lymphoid Follicle Epithelium of Peyer's Patches in Normal Unobstructed Mouse Intestine - Ultrastructural-Study. *Gastroenterology* 1977; 72(3):440-51.

Owen RL, Apple RT, Bhalla DK. Morphometric and Cytochemical Analysis of Lysosomes in Rat Peyer's Patch Follicle Epithelium - Their Reduction in Volume Fraction and Acid-Phosphatase Content in M Cells Compared to Adjacent Enterocytes. *Anat Rec.* 1986; 216(4):521-7.

Owen RL, Ermak TH. Structural Specializations for Antigen Uptake and Processing in the Digestive-Tract. *Springer Semin Immunopathol.* 1990; 12(2-3):139-152.

Owen RL. M-Cells - Entryways of Opportunity for Enteropathogens. *J Exp Med.* 1994; 180(1):7-9.

Pabst R. Der Darm als Immunorgan. *Med Klin.* 1983; 78(2):36-42.

Pabst R. The Anatomical Basis for the Immune Function of the Gut. *Anat Embryol.* 1987; 176(2):135-44.

Pabst R, Geist M, Rothkotter HJ, Fritz FJ. Postnatal development and lymphocyte production of jejunal and ileal Peyer's patches in normal and gnotobiotic pigs. *Immunology* 1988; 64(3):539-44.

Pabst R. Der Darm als Immunorgan. *Verh Anat Ges.* 1991;85 Suppl 170:S105-13.

Palmer MS, Dryden AJ, Hughes JT, Collinge J. Homozygous Prion Protein Genotype Predisposes to Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Nature* 1991; 352 (6333):340-2.

Pattison IH, Watson WA, Hoare MN, Jebbett JN. Spread of Scrapie to Sheep and Goats by Oral Dosing with Fetal Membranes from Scrapie-Affected Sheep. *Vet Rec.* 1972; 90(17):465-8.

Pattison IH, Hoare MN, Jebbett JN, Watson WA. Further Observations on Production of Scrapie in Sheep by Oral Dosing with Fetal Membranes from Scrapie-Affected Sheep. Br Vet J. 1974; 130(4):R65-67.

Pedersen NS, Smith E. Prion diseases: Epidemiology in man. APMIS 2002; 110(1):14-22.

Pohlenz J, Liebler EM. Aspects of Function and Morphology of the Gut Associated Lymphoid System. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 1987; 94(5):306-11.

Pospischil A. Struktur und Funktion von Peyer'schen Platten im Darm verschiedener Tierarten. Schweiz Arch Tierheilkd. 1989; 131(10):595-603.

Prange H. Herausgeber. Bovine Spongiforme Encephalopathy des Rindes – Vorkommen, Risikomanagement und aktuelle Bewertung (Internet). Halle/Saale; 2005 (zitiert vom 28.07.2009). Erhältlich unter:  
<http://mlutkls1.landw.uni-halle.de/inhalte/Aktuelles/Stellungnahme%20-%20BSE.pdf>.

Prince MJ, Bailey JA, Barrowman PR, Bishop KJ, Campbell GR, Wood JM. Bovine spongiform encephalopathy. Rev Sci Tech. 2003; 22(1):37-60.

Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 1982; 216(4542):136-44.

Prusiner SB. Prion Biology and Diseases. 2. Auflage. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2004.

Prusiner SB. History of Prion Research. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 44-55.

Prändl O, Fischer A, Schmidhofer T, Sinell HJ. Fleisch - Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung. 1. Auflage. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer; 1988.



Raeber AJ, Moser M, Oesch B. Diagnosis of Bovine Spongiform Encephalopathy by Immunological Methods. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 408-20.

Rescigno M, Rotta G, Valzasina B, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology* 2001a; 204(5):572-81.

Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol.* 2001b; 2(4):361-7.

Reynolds JD, Morris B. The evolution and involution of Peyer's patches in fetal and postnatal sheep. *Eur J Immunol.* 1983; 13(8):627-35.

Reynolds JD, Morris B. The Effect of Antigen on the Development of Peyer Patches in Sheep. *Eur J Immunol.* 1984; 14(1):1-6.

Reynolds JD, Kennedy L, Peppard J, Pabst R. Ileal Peyer Patch Emigrants Are Predominantly B-Cells and Travel to All Lymphoid-Tissues in Sheep. *Eur J Immunol.* 1991; 21(2):283-9.

Rooney JR. Submucosal Glands in the Bovine Colon. *Am J Vet Res.* 1956; 17(65): 599-606.

Rosner AJ, Keren DF. Demonstration of M-Cells in the Specialized Follicle-Associated Epithelium Overlying Isolated Lymphoid Follicles in the Gut. *J Leukoc Biol.* 1984; 35(4):397-404.

Rothkötter HJ, Pabst R. Lymphocyte subsets in jejunal and ileal Peyer's patches of normal and gnotobiotic minipigs. *Immunology* 1989; 67(1):103-8.

Sahlender HT. Untersuchungen zur Anzahl, Größe, Verteilung und Morphologie der Peyerschen Platten im Dünndarm und der Solitärfollikel im Dickdarm bei Schweine-

feten und neugeborenen Ferkeln [Dissertation med. vet]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1989.

Salomon FV, Geyer H, Gille U. Anatomie für die Tiermedizin. 1. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2005.

Sander P, Hamann H, Pfeiffer I, Wemheuer W, Brenig B, Groschup MH et al. Analysis of sequence variability of the bovine prion protein gene (PRNP) in German cattle breeds. Neurogenetics 2004; 5(1):19-25.

Sander P, Hamann H, Drögemüller C, Kashkevich K, Schiebel K, Leeb T. Bovine prion protein gene (PRNP) promoter polymorphisms modulate PRNP expression and may be responsible for differences in bovine spongiform encephalopathy susceptibility. J Biol Chem. 2005; 280(45):37408-14.

Schmidt W. Wursthüllen. Naturdärme. In: Marienhagen H, Burggraf W, Schröder O. Herausgeber. Handbuch für das Fleischergewerbe. Ein Hand- und Nachschlagebuch für die Praxis. 11. Auflage. Gießen: Fachbuchverlag Dr. Pfanneberg & Co.; 1968. S. 268-82.

Scientific Steering Committee (SSC) 1997. Listing of Specified Risk Material: a scheme for assessing relative risk to man - Opinion of the Scientific Steering Committee adopted on 9 December 1997 (zitiert vom 28.11.2007):1-18, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out22\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out22_en.pdf).

Scientific Steering Committee (SSC) 1998. Opinion on BSE risk adopted by the Scientific Steering Committee at its plenary meeting of 26-27 March 1998, following a public consultation on the preliminary opinion adopted on 19-20 February 1998 (zitiert vom 08.07.2009):1, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out13\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out13_en.html).

Scientific Steering Committee (SSC) 1999. Opinion Of The Scientific Steering Committee On The Human Exposure Risk Via Food With Respect to BSE Adopted on 10 December 1999 (zitiert vom 28.11.2007):1-26,

[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out67\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out67_en.pdf).

Scientific Steering Committee (SSC) 2000. Opinion of the Scientific Steering Committee (1) on the scientific basis for import bans proposed by 3 Member States with regard to BSE risks in France and the Republic of Ireland; (2) on the scientific basis for several measures proposed by France with regard to BSE risks; (3) and on the scientific basis for banning animal protein from the feed for all farmed animals, including pig, poultry, fish and pet animals adopted by the Scientific Steering Committee at its Meeting of 27-28 November 2000 (zitiert vom 28.07.2009):1-17, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out150\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out150_en.pdf).

Scientific Steering Committee (SSC) 2002. Opinion On TSE Infectivity Distribution In Ruminant Tissue adopted by the Scientific Steering Committee at its Meeting of 10-11 January 2002 (zitiert vom 07.07.2009):1-37, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out241\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out241_en.pdf).

Scientific Steering Committee (SSC) 2003. Overview of the BSE risk assessment of the European Commission's Scientific Steering Committee (SSC) and its TSE/BSE *ad hoc* Group adopted between September and April 2003 (zitiert vom 06.10.2008):1-240, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out364\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out364_en.pdf).

Scott MR, Will R, Ironside J, Nguyen HO, Tremblay P, DeArmond SJ; et al. Compelling transgenetic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc Natl Acad Sci*: 1999; 96(26):15137-42.

Selhorst T, Pottgießer C, Teske K, Krämer D, Mettenleiter TC, Groschup MH et al. Zur BSE-Situation in Deutschland geborenen Rindern fünf Jahre nach Einführung des totalen Verfütterungsverbotes. 2005 (zitiert vom 28.07.2009):87-92, ISSN 1861-0005 [http://www.fli.bund.de/fileadmin/user\\_upload/Dokumente/Jahresberichte/2005/dt/JB2005\\_gesamt.pdf](http://www.fli.bund.de/fileadmin/user_upload/Dokumente/Jahresberichte/2005/dt/JB2005_gesamt.pdf).

Selhorst T, Buschmann A, Hoffmann C, Eiden M, Groschup MH, Conraths FJ, et al. Transmissible spongiforme Encephalopathien (TSE). In: Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Herausgeber. Tiergesundheitsjahresbericht 2006. Dresden: Poly-Druck Dresden GmbH; 2007. S.121-30.

Selhorst T, Buschmann A, Groschup MH, Conraths FJ. Transmissible spongiforme Encephalopathien (TSE) – Bovine spongiform Encephalopathy, Scrapie. In: Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Herausgeber. Tiergesundheitsjahresbericht 2007. Hamburg: HSD Hanse Druck-Service GmbH; 2008. S. 111- 18.

Simmons MM, Harris P, Jeffrey M, Meek SC, Blamire IW, Wells GA. BSE in Great Britain: consistency of the neurohistopathological findings in two random annual samples of clinically suspect cases. Vet Rec: 1996; 138(8):175-7.

Sminia T, Janse EM, Plesch BEC. Ontogeny of Peyers Patches of the Rat. Anat Rec: 1983; 207(2):309-16.

Smollich A, Michel G. Mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere. 2., überarbeitete Auflage. Jena Stuttgart: Gustav Fischer Verlag Jena; 1992.

Sobhon P. Light and Electron Microscopic Studies of Peyers Patches in Non Germ-Free Adult Mice. J Morphol: 1971; 135(4):457-81.

Somerville RA, Birkett CR, Farquhar CF, Hunter N, Goldmann W, Dornan J, et al. Immunodetection of PrP<sup>Sc</sup> in spleens of some scrapie-infected sheep but not BSE-infected cows. J Gen Virol. 1997; 78 (Pt 9):2389-96.

Stevenson MA, Wilesmith JW, Ryan JB, Morris RS, Lockhart JW, Lin D, et al. Temporal aspects of the epidemic of bovine spongiform encephalopathy in Great Britain: individual animal-associated risk factors for the disease. Vet Rec. 2000; 147 (13):349-54.

Taylor DM, McConnell I, Fraser H. Scrapie infection can be established readily through skin scarification in immunocompetent but not immunodeficient mice. *J Gen Virol.* 1996; 77:1595-9.

Terry LA, Marsh S, Ryder SJ, Hawkins SA, Wells GA, Spencer YI. Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec.* 2003; 152(13):387-92.

The European and Allied Countries Collaborative Study Group of CJD (EUROCJD) 2008. Table 2: Numbers of cases and mortality rates per country from 1993 to 31 March 2008 of sporadic CJD (zitiert vom 11.07.2008):1, <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/sporadic.htm>.

The European and Allied Countries Collaborative Study Group of CJD (EUROCJD) 2010. Table 4: Cases of vCJD worldwide (zitiert vom 01.03.2010):1, <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/vcjdworldeuro.htm>.

Torres-Medina A. Morphologic characteristics of the epithelial surface of aggregated lymphoid follicles (Peyer's patches) in the small intestine of newborn gnotobiotic calves and pigs. *Am J Vet Res.* 1981; 42(2):232-6.

Trevitt CR, Singh PN. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: pathology, epidemiology, and public health implications. *Am J Clin Nutr.* 2003; 78(3 Suppl):651S-6S.

Trier JS. Structure and Function of Intestinal M-Cells. *Gastroenterol Clin North Am.* 1991; 20(3):531-47.

Tuo WB, Zhuang DY, Knowles DP, Cheevers WP, Sy MS, O'Rourke KI. PrP<sup>C</sup> and PrP<sup>Sc</sup> at the fetal-maternal interface. *J Biol Chem.* 2001; 276(21):18229-34.

Uhr G. Vergleichende Untersuchungen am Darmtrakt des Wild- und Hausschweins unter besonderer Berücksichtigung des Darmschleimhautimmunsystems [Habilschr. med. vet]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1993.

Valleron AJ, Boelle PY, Will R, Cesbron JY. Estimation of epidemic size and incubation time based on age characteristics of vCJD in the United Kingdom. *Science* 2001; 294(5547):1726-8.

van Keulen LJM, Schreuder BE, Meloen RH, Mooij-Harkes G, Vromans ME, Langeveld JP. Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *J Clin Microbiol.* 1996; 34(5):1228-31.

van Keulen LJM, Schreuder BEC, Vromans MEW, Langeveld JPM, Smits MA. Pathogenesis of natural scrapie in sheep. *Arch Virol.* 2000;57-71.

van Keulen LJM, Vromans ME, van Zijderveld FG. Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. *APMIS* 2002; 110(1):23-32.

van Keulen LJM, Vromans MEW, Dolstra CH, Bossers A, van Zijderveld FG. Pathogenesis of bovine spongiform encephalopathy in sheep. *Arch Virol.* 2008; 153 (3):445-53.

Vollmerhaus B, Roos H. Speiseröhre, Magen, Darm und Darmanhangsdrüsen. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E. *Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere: Band II, Eingeweide.* Frewein J, Gasse H, Leiser R, Roos H, Thomé H, Vollmerhaus B, et al. Herausgeber. 8., vollständig neubearbeitete Auflage. Berlin Wien: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1999. S. 103-95.

Voigt E. *Die Bearbeitung von Naturdärmen im Fleischereibetrieb.* 1. Auflage. Berlin: Deutsche Fleischer-Zeitung Verlag Hans Holzmann; 1939.

Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, Campbell TA, Desbruslais M, Luthert PJ, et al. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358(9277):171-80.

Wadsworth JD, Hill AF, Beck JA, Collinge J. Molecular and clinical classification of human prion disease. *Br Med Bull.* 2003; 66:241-54.

Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec.* 1987; 121(18):419-20.

Wells GAH, Dawson M, Hawkins SAC, Green RB, Dexter I, Francis ME, et al. Infectivity in the Ileum of Cattle Challenged Orally with Bovine Spongiform Encephalopathy. *Vet Rec.* 1994; 135(2):40-1.

Wells GAH, Wilesmith JW. The Neuropathology and Epidemiology of Bovine Spongiform Encephalopathy. *Brain Pathol.* 1995; 5(1):91-103.

Wells GAH, Hawkins SAC, Green RB, Austin AR, Dexter I, Spencer YI, et al. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet Rec.* 1998; 142(5):103-6.

Wells GAH, Hawkins SAC, Green RB, Spencer YI, Dexter I, Dawson M. Limited detection of sternal bone marrow infectivity in the clinical phase of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Vet Rec.* 1999; 144(11):292-4.

Wells GAH, Ryder SJ, Hadlow WJ. The Pathology of Prion Diseases in Animals. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prions in Humans and Animals*. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 315-27.

Wells GAH, Spiropoulos J, Hawkins SAC, Ryder SJ. Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy: preclinical infectivity in tonsil and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. *Veterinary Record* 2005; 156(13):401-407.

Wells GAH, Konold T, Arnold ME, Austin AR, Hawkins SAC, Stack M, et al. Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle. *J Gen Virol.* 2007; 88:1363-73.

Weyrauch KD, Smollich A, Plendl J. *Histologie-Kurs für Veterinärmediziner*. Unter Mitarbeit von B. Schnorr. 2., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 2009.



Wijnker JJ, Koop G, Lipman LJ. Antimicrobial properties of salt (NaCl) used for the preservation of natural casings. *Food Microbiol.* 2006; 23(7):657-62.

Wijnker JJ, Tersteeg MHG, Berends BR, Vernooij JCM, Koolmees PA. Quantitative histological analysis of bovine small intestines before and after processing into natural sausage casings. *J Food Prot.* 2008; 71(6):1199-1204.

Wijnker JJ. Casings Safety measures legally regulated Aspects of quality assurance in the manufacture of casings - review part 1. *Fleischwirtschaft* 2009; 89(5):51-8.

Wilesmith JW, Wells GA, Cranwell MP, Ryan JB. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet Rec.* 1988; 123(25):638-44.

Wilesmith JW, Ryan JB, Atkinson MJ. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Vet Rec.* 1991; 128(9):199-203.

Wilesmith JW, Ryan JB, Hueston WD. Bovine spongiform encephalopathy: case-control studies of calf feeding practices and meat and bonemeal inclusion in proprietary concentrates. *Res Vet Sci.* 1992; 52(3):325-31.

Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347(9006):921-25.

Will RG. Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull.* 2003; 66:255-65.

Will RG, Ironside JW. Portrait of Variant Creutzfeldt-Jakob Disease. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. *Prions in Humans and Animals.* 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 204-09.

Windl O, Dempster M, Estibeiro JP, Lathe R, deSilva R, Esmonde T, et al. Genetic basis of Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom: A systematic analysis of predisposing mutations and allelic variation in the PRNP gene. *Human Genet.* 1996; 98(3):259-64.

Wood JL, Done SH. Natural scrapie in goats: neuropathology. Vet Rec. 1992; 131(5):93-6.

World Organisation for Animal Health (OIE) 2009a. Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide (excluding the United Kingdom) (zitiert vom 24.11.2009):1, [http://www.oie.int/eng/info/en\\_esbmonde.htm](http://www.oie.int/eng/info/en_esbmonde.htm).

World Organisation for Animal Health (OIE) 2009b. Number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) reported in the United Kingdom (zitiert vom 04.07.2009):1, [http://www.oie.int/eng/info/en\\_esbru.htm](http://www.oie.int/eng/info/en_esbru.htm).

Yamakawa Y, Hagiwara K, Nohtomi K, Nakamura Y, Nishijima M, Higuchi Y, et al. Atypical Proteinase K-Resistant Prion Protein (PrP<sup>res</sup>) Observed in an Apparently Healthy 23-Month-Old Holstein Steer. Jpn J Infec Dis. 2003; 56:221-22.

Yasuda M, Tanaka S, Arakawa H, Taura Y, Yokomizo Y, Ekino S. A comparative study of gut-associated lymphoid tissue in calf and chicken. Anat Rec. 2002; 266(4):207-17.

Yasuda M, Jenne CN, Kennedy LJ, Reynolds JD. The sheep and cattle Peyer's patch as a site of B-cell development. Vet Res. 2006a; 37(3):401-15.

Yasuda M, Takanashi M, Nasu T, Murakami T. Histological studies on the ontogeny of bovine palatine and pharyngeal tonsil: Germinal center formation, IgG, and IgA mRNA expression. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2006b; 29(5-6):279-93.

Zerr I, Poser S. Die Epidemiologie und Risikofaktoren der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prionen und Prionenkrankheiten. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2001. S. 299-305.

Zerr I, Poser S. Epidemiology and Risk Factors of Creutzfeldt-Jakob Disease. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H. Herausgeber. Prions in Humans and Animals. 1. Auflage. Berlin, New York: de Gruyter; 2006. S. 423-32.

Ziegler U, Wagenschwanz B, Weber A, Hoffmann C, Buschmann A, Groschup MH. Der lange Weg ins Gehirn. Fleischwirtschaft 2006; 86(1):14-7.

Zietzschmann O, Krölling O. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere. 2. Auflage. Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag; 1955.

Zentralverband Naturdarm. Herausgeber. Der Veredelungsprozess – vom Darm zum Naturdarm. Fleischwirtschaft 2002; 11:32.

Zentralverband Naturdarm (ZVN) 2008. 2009c. Naturdarm-Handel weiter auf Erfolgskurs. (zitiert vom 19.03.2009):1-2,  
[http://www.naturdarm.de/de/presse/pressemeldungen/download/PM\\_Naturdarm-Handel.pdf](http://www.naturdarm.de/de/presse/pressemeldungen/download/PM_Naturdarm-Handel.pdf).

Zentralverband Naturdarm (ZVN) 2009a. Natur zahlt sich aus. Handwerkliche Wurst im Naturdarm aus dem Fleischer-Fachgeschäft (zitiert vom 19.03.2009):1-8,  
[http://www.naturdarm.de/de/downloads/NAD\\_Beileger\\_Einzel.pdf](http://www.naturdarm.de/de/downloads/NAD_Beileger_Einzel.pdf).

Zentralverband Naturdarm (ZVN) 2009b. Feine Hülle für die Wurst – Warum Wurst im Naturdarm? (zitiert vom 19.03.2009): 1,  
[http://www.naturdarm.de/de/wurst\\_fuer\\_geniesser/feine\\_huelle/warum\\_naturdarm.html](http://www.naturdarm.de/de/wurst_fuer_geniesser/feine_huelle/warum_naturdarm.html).

## ANHANG

### Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Gewichte und Längen der Ilea	136
Tabelle 2	Histologischen Untersuchung der Ilea	139
Tabelle 3	Histologischen Untersuchung der Jejuna	142
Tabelle 4	Vorkommen der PP im Jejunum und Ileum	144
Tabelle 5	Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung	147

# 1 Bestimmung des Ileumgewichtes und der Ileumlänge

Tabelle 1: Daten der beprobten Rinder und die ermittelten Gewichte und Längen der Ilea, vor und nach der Behandlung

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Mo)	SEG (kg)	G <sub>U</sub> (g)	L <sub>U</sub> (cm)	G <sub>B</sub> (g)	L <sub>B</sub> (cm)
1	FL	ma	19	399,6	550,0	28,0	96,6	94,0
2	FL	ma	20	402,6	330,0	30,0	64,6	52,0
3	FL	ma	20	364,4	325,0	31,0	72,3	61,0
4	FL	ma	20	418,0	220,0	32,0	54,8	58,0
5	FL	ma	18	431,6	410,0	30,0	73,5	69,0
6	FL	ma	19	379,2	210,0	32,0	46,1	55,0
7	FL	ma	19	394,6	240,0	37,0	37,4	59,0
8	SBT	fe	40	322,0	260,0	39,0	39,4	54,0
9	SBT	fe	78	215,6	166,1	35,0	67,8	52,0
10	SON	fe	55	223,2	107,9	37,0	36,2	46,0
11	SBT	fe	26	183,2	234,6	37,0	45,4	76,0
12	SBT	fe	49	343,4	251,5	40,0	45,2	78,0
13	SBT	ma	18	319,4	236,7	42,0	45,4	54,0
14	SBT	ma	18	322,0	249,9	41,0	43,1	63,0
15	SBT	fe	8	86,6	251,5	40,0	42,8	57,0
16	SBT	fe	76	351,2	207,9	37,0	38,0	63,0
17	SBT	fe	52	342,0	286,8	40,0	59,5	67,0
18	SBT	ma	20	356,4	230,0	43,0	88,1	66,0
19	SBT	ma	19	380,8	122,1	38,0	69,3	35,0
20	XFF	ma	23	377,4	177,7	39,0	88,5	48,0
21	HLD	fe	11	113,2	190,0	27,0	43,9	50,0
22	XFF	ma	20	445,2	258,4	36,0	70,2	73,0
23	SBT	ma	18	307,6	228,0	40,0	57,2	61,0
24	FL	ma	17	382,6	313,8	44,0	114,5	111,0
25	FLF	ma	14	370,0	227,0	51,0	92,9	68,0
26	FL	ma	18	362,4	362,4	46,0	100,5	56,0
27	SBT	fe	76	262,6	195,4	45,0	36,3	54,0
28	SBT	fe	24	222,0	287,1	53,0	41,4	63,0
29	SBT	fe	113	182,6	124,3	45,0	73,5	59,0
30	SBT	fe	44	285,0	188,9	47,0	82,6	90,0
31	XMM	fe	106	263,2	177,2	46,0	56,5	58,0
32	SBT	fe	79	297,4	242,1	52,0	42,4	61,0
33	SBT	fe	60	269,2	335,5	52,0	71,8	64,0
34	SBT	fe	39	282,2	375,2	45,0	44,3	64,0
35	SBT	ma	22	406,0	347,7	40,0	64,5	93,0
36	SBT	ma	22	380,0	335,5	44,0	61,7	63,0
37	SBT	ma	19	377,0	222,5	38,0	43,6	42,0
38	SBT	ma	22	397,4	229,0	43,0	45,4	66,0
39	SBT	ma	19	337,8	201,3	47,0	43,4	72,0
40	SBT	fe	52	339,2	159,9	46,0	39,3	58,0
41	RBT	fe	64	251,4	167,2	44,0	46,0	56,0
42	SBT	fe	74	249,8	161,7	42,0	35,5	65,0
43	SBT	fe	30	221,8	153,4	46,0	41,0	58,0
44	SBT	fe	27	220,4	118,2	50,0	30,1	58,0
45	FL	ma	20	345,2	173,8	45,0	35,4	57,0

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Mo)	SEG (kg)	G <sub>U</sub> (g)	L <sub>U</sub> (cm)	G <sub>B</sub> (g)	L <sub>B</sub> (cm)
46	FL	ma	20	442,6	216,3	48,0	69,0	67,0
47	FL	ma	19	402,6	315,2	55,0	92,3	97,0
48	SBT	ma	19	374,4	180,2	52,0	52,8	85,0
49	SBT	fe	66	290,0	180,0	51,0	33,6	67,0
50	SBT	fe	56	267,2	221,8	52,0	47,6	64,0
51	SBT	fe	27	232,0	203,6	46,0	38,5	70,0
52	SBT	fe	80	205,6	190,5	47,0	102,4	72,0
53	SBT	fe	90	241,6	149,0	43,0	66,4	52,0
54	SBT	fe	36	216,4	177,8	41,0	37,3	52,0
55	SON	fe	46	395,6	372,3	43,0	38,6	78,0
56	SBT	fe	58	208,4	143,0	48,0	33,7	58,0
57	XFM	fe	33	250,6	110,4	48,0	36,8	60,0
58	XFF	ma	21	390,0	268,3	43,0	68,6	100,0
59	SBT	ma	22	294,0	467,5	48,0	91,7	102,0
60	SBT	ma	22	285,0	164,1	48,0	32,3	62,0
61	SBT	fe	24	202,4	185,9	53,0	79,1	70,0
62	SBT	ma	20	432,8	102,2	48,0	46,4	67,0
63	SBT	fe	37	370,6	366,0	52,0	38,5	70,0
64	SBT	fe	38	276,6	202,3	53,0	57,7	61,0
65	SBT	fe	61	215,4	166,0	50,0	115,4	78,0
66	SBT	ma	23	324,8	235,0	47,0	50,5	73,0
67	SBT	fe	70	275,8	235,3	46,0	33,0	59,0
68	SBT	fe	21	261,8	288,4	51,0	57,2	56,0
69	SBT	ma	18	356,8	267,1	52,0	54,4	73,0
70	SBT	ma	19	371,2	141,2	44,0	44,2	49,0
71	SBT	ma	18	307,4	200,6	47,0	61,3	51,0
72	SBT	fe	50	336,8	356,1	48,0	47,1	53,0
73	SBT	fe	59	325,4	321,1	51,0	45,8	84,0
74	SBT	fe	94	227,0	163,9	51,0	105,5	61,0
75	SBT	fe	20	236,8	199,9	42,0	34,8	63,0
76	SBT	fe	67	347,4	157,4	43,0	80,5	54,0
77	SBT	ma	23	366,6	165,0	46,0	35,1	57,0
78	SBT	ma	22	412,6	164,2	49,0	23,1	56,0
79	SBT	fe	77	418,0	173,6	52,0	36,9	69,0
80	SBT	fe	45	239,0	167,6	42,0	32,6	59,0
81	SBT	fe	79	272,8	89,9	53,0	33,5	67,0
82	SBT	ma	20	391,4	196,3	50,0	41,1	72,0
83	SBT	ma	17	349,0	557,0	53,0	118,0	105,0
84	SBT	ma	17	389,8	175,1	44,0	37,7	57,0
85	SBT	ma	17	360,8	287,6	45,0	43,4	79,0
86	SBT	ma	17	467,0	517,1	50,0	84,0	110,0
87	SBT	fe	53	221,6	216,3	56,0	98,4	63,0
88	SBT	fe	71	255,8	297,3	55,0	116,3	79,0
89	SBT	fe	60	347,0	233,0	61,0	31,1	65,0
90	SBT	fe	15	224,8	202,9	57,0	67,6	82,0
91	SBT	fe	29	203,2	235,0	58,0	75,7	109,0
92	SBT	fe	47	260,2	142,1	55,0	51,4	66,0

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Mo)	SEG (kg)	G <sub>U</sub> (g)	L <sub>U</sub> (cm)	G <sub>B</sub> (g)	L <sub>B</sub> (cm)
93	SBT	fe	49	167,4	113,2	52,0	62,7	65,0
94	SBT	fe	44	302,0	165,1	52,0	40,0	61,0
95	SBT	fe	32	191,8	314,0	57,0	124,5	122,0
96	SBT	fe	62	300,0	159,2	50,0	61,3	56,0
97	SBT	fe	28	196,4	369,3	44,0	135,8	101,0
98	SBT	fe	38	204,4	160,1	57,0	84,2	70,0
99	SBT	fe	27	362,6	173,5	47,0	36,6	55,0
100	SBT	ma	17	373,2	235,2	58,0	69,9	90,0
101	SBT	ma	22	391,4	156,2	43,0	44,8	56,0
102	SBT	ma	20	382,6	235,9	54,0	64,2	81,0
103	SBT	fe	36	339,6	152,7	46,0	35,0	61,0
104	FL	ma	19	312,8	137,3	46,0	47,3	70,0
105	FL	ma	20	406,2	138,8	51,0	35,3	69,0
106	SBT	fe	66	271,4	231,3	54,0	53,9	62,0
107	XFF	ma	20	482,8	218,3	47,0	56,3	81,0
108	FL	ma	23	412,2	269,8	52,0	88,0	99,0
109	SBT	fe	58	295,2	420,9	47,0	59,5	102,0
110	SBT	fe	25	233,0	193,4	37,0	32,4	65,0
111	XMM	fe	45	401,0	141,1	52,0	37,1	90,0
112	SBT	fe	45	172,0	111,1	38,0	23,1	48,0
113	SBT	fe	76	214,6	190,6	43,0	36,1	61,0
114	SBT	fe	44	246,6	276,3	45,0	92,2	100,0
115	XFF	ma	15	400,8	314,1	31,0	63,3	84,0
116	XFF	ma	15	377,2	174,5	51,0	48,2	72,0
117	FLF	ma	15	356,0	205,2	41,0	47,2	81,0
118	XFF	ma	12	206,8	193,0	47,0	41,4	89,0
119	SON	fe	87	203,6	103,5	37,0	46,1	72,0
120	SBT	ma	19	385,6	181,3	42,0	32,2	63,0
121	SBT	ma	13	417,8	287,1	43,0	42,6	69,0
122	SBT	ma	18	332,2	235,7	42,0	42,1	58,0
123	SBT	ma	22	364,4	193,1	41,0	41,0	76,0
124	SBT	ma	23	414,6	160,6	42,0	28,1	57,0
125	SBT	ma	19	376,4	215,0	43,0	50,1	56,0
126	SBT	ma	15	388,0	323,3	43,0	61,7	84,0
127	SBT	ma	17	413,6	286,4	44,0	59,9	56,0
128	SBT	ma	20	348,4	226,4	43,0	55,0	83,0
129	SBT	ma	22	359,6	221,4	42,0	43,9	78,0

Mo	Monate
SEG	Schlachtendgewicht
G <sub>B</sub>	Gewicht der bearbeiteten Probe
G <sub>U</sub>	Gewicht der unbearbeiteten Probe
L <sub>B</sub>	Länge der bearbeiteten Probe
L <sub>U</sub>	Länge der unbearbeiteten Probe
ma	männlich
fe	weiblich



## 2 Histologische Untersuchung der Ilea

Tabelle 2: Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Ilea

Rind	Alter des Rindes	Proben-nummer	Darm-abschnitt	Unter-abschnitt	Methode	Nummer des Blocks	Präparat-nummer	Schnitte	Darmwand-schichten	Lymphatisches Gewebe
1	19 Mo	I-01	I	proximal	B	500 / 06	01/06	3	2,3,4,5	-
1	19 Mo	I-01	I	medial	B	501 / 06	02/06	3	2,3,4,5	-
1	19 Mo	I-01	I	distal	B	502 / 06	03/06	3	2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	proximal	B	1417 / 07	01/07	3	[1],2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	proximal	B	1418 / 07	02/07	3	[1],2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	proximal	B	1419/07	03/07	3	[1],2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	medial	B	1420/07	04/07	3	2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	medial	B	1421/07	05/07	3	[1],2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	medial	B	1422/07	06/07	3	2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	distal	B	1423/07	07/07	3	2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	distal	B	1424/07	08/07	3	2,3,4,5	-
2	76 Mo	I-02	I	distal	B	1425/07	09/07	3	[1],2,3,4,5	-
3	45 Mo	I-03	I	proximal	U	1816/07	13/07	3	1,2,3,4,5	-

Rind	Alter des Rindes	Proben-nummer	Darm-abschnitt	Unter-abschnitt	Methode	Nummer des Blocks	Präparat-nummer	Schnitte	Darmwand-schichten	Lymphatisches Gewebe
3	45 Mo	I-03	I	medial	U	1817/07	15/07	3	1,2,3,4,5	SF
3	45 Mo	I-03	I	distal	U	1818/07	18/07	3	1,2,3,4,5	SF
4	21 Mo	I-04	I	proximal	N	1820/07	19/07	6	B: [1],2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: - U: PP, SF
4	21 Mo	I-04	I	medial	N	1821/07	21/07	6	B: [1],2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: - U: PP, SF
4	21 Mo	I-04	I	distal	N	1822/07	23/07	6	B: [1],2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: - U: PP, SF
5	42 Mo	I-05	I	proximal	U	2435 A/07	24/07	3	1,2,3,4,5	-
5	42 Mo	I-05	I	medial	U	2435 B/07	25/07	3	1,2,3,4,5	SF
5	42 Mo	I-05	I	distal	U	2435 C/07	26/07	3	1,2,3,4,5	PP, SF
6	34 Mo	I-06	I	proximal	U	3669/07	30/07	3	1,2,3,4,5	PP, SF
6	34 Mo	I-06	I	medial	U	3670/07	31/07	3	1,2,3,4,5	-
6	34 Mo	I-06	I	distal	U	3671/07	32/07	3	1,2,3,4,5	-
6	34 Mo	I-07	I	proximal	N	62 A/08	33/07	5	B: 2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	-
6	34 Mo	I-07	I	medial	N	62 B/08	34/07	5	B: 2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: (SF) U: PP, SF

Rind	Alter des Rindes	Proben-nummer	Darm-abschnitt	Unter-abschnitt	Methode	Nummer des Blocks	Präparat-nummer	Schnitte	Darmwand-schichten	Lymphatisches Gewebe
6	34 Mo	I-07	I	distal	N	62 C/08	35/07	5	B: 2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: - U: PP, SF
7	13 Mo	I-08	I	proximal	B	1731 B/08	04/08	3	2,3,4,5	-
7	13 Mo	I-09	I	distal	U	1731 A/08	05/08	3	1,2,3,4,5	PP
8	18 Mo	I-10	I	proximal	B	1733 A/08	10/08	3	[1],2,3,4,5	-
8	18 Mo	I-11	I	medial	U	1733 B/08	11/08	3	1,2,3,4,5	PP
8	18 Mo	I-12	I	distal	N	1133C/08	12/08	3	B: 2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	PP
9	12 Mo	I-13	I	medial	U	3437/08	18/08	3	1,2,3,4,5	PP

J	Jejunum	Darmwandschichten	1	<i>Tunica mucosa</i>
B	bearbeitet		2	<i>Tela submucosa</i>
U	unbearbeitet		3	<i>Tunica muscularis</i>
N	bearbeitet neben unbearbeitet		4	<i>Tela suserosa</i>
[]	Reste der Darmwandschicht nachweisbar		5	<i>Tunica serosa</i>
()	Nachweis in den verbliebenen Resten der <i>Tunica mucosa</i>			
-	kein Nachweis			
Mo	Monate			
PP	<i>Peyer'sche-Platten</i>			
SF	Solitärfollikel			

3. Histologische Untersuchung der Jejuna

Tabelle 3: Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Jejuna

Rind	Alter des Rindes	Darmabschnitt	Probennummer	Methode	Nummer des Blocks	Präparatnummer	Schnitte	Darmwand-schichten	Lymphatisches Gewebe
6	42 Mo	J	J-01	U	2989 A/07	28/07	3	1,2,3,4,5	PP
6	42 Mo	J	J-02	B	2989 B/07	29/07	3	[1],2,3,4,5	(SF)
10	18 Mo	J	J-03	N	1730 A/08	06/08	3	B: 2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: - U: PP, SF
10	18 Mo	J	J-04	U	1730 B/08	07/08	3	1,2,3,4,5	PP
10	18 Mo	J	J-05	B	1730 C/08	08/08	3	[1],2,3,4,5	-
10	18 Mo	J	J-06	B	1730 D/08	09/08	3	[1],2,3,4,5	(SF)
7	13 Mo	J	J-07	N	1732 A/08	01/08	3	B: [1],2,3,4,5 U: 1,2,3,4,5	B: (SF) U: PP
7	13 Mo	J	J-08	B	1732 B/08	02/08	3	2,3,4,5	-
7	13 Mo	J	J-09	U	1732 C/08	03/08	3	1,2,3,4,5	PP

Rind	Alter des Rindes	Darmabschnitt	Probennummer	Methode	Nummer des Blocks	Präparatnummer	Schnitte	Darmwand-schichten	Lymphatisches Gewebe
11	19 Mo	J	J-10	B	3435A/08	14/08	3	2,3,4,5	-
11	19 Mo	J	J-10	B	3435B/08	15/08	3	[1],2,3,4,5	-
12	15 Mo	J	J-11	B	3436A/08	16/08	3	[1],2,3,4,5	-
12	15 Mo	J	J-11	B	3436B/08	17/08	3	[1],2,3,4,5	-

J Jejunum	1	<i>Tunica mucosa</i>
B bearbeitet	2	<i>Tela submucosa</i>
U unbearbeitet	3	<i>Tunica muscularis</i>
N bearbeitet neben unbearbeitet	4	<i>Tela suserosa</i>
[] Reste der Darmwandschicht nachweisbar	5	<i>Tunica serosa</i>

() Nachweis in den verbliebenen Resten der *Tunica mucosa*

- kein Nachweis

PP *Peyer'sche-Platten*

SF Solitärfollikel

#### 4 Untersuchung des Rinderdünndarms auf sichtbare Peyer'sche-Platten

Tabelle 4: Vorkommen der PP im Jejunum und Ileum von Schlachtrindern, die Daten sind in drei Gruppen (Ileum mit PP (+), Jejunum ohne PP (-) und Jejunum mit PP (+)) geordnet

Nr.	Probe	SN	PP im Jejunum	PP im Ileum	Alter (Mo)
1	59	623	+	+	12
1	4	567	-	-	19
2	24	588	-	-	19
3	36	600	-	-	64
4	37	601	-	-	74
5	55	619	-	-	64
6	61	625	-	-	90
7	62	626	-	-	54
8	63	627	-	-	92
9	67	631	-	-	99
10	69	633	-	-	23
11	73	637	-	-	52
12	76	640	-	-	62
13	77	641	-	-	59
14	86	650	-	-	105
15	89	653	-	-	110
1	1	1	+	-	18
2	2	2	+	-	18
3	3	3	+	-	18
4	4	4	+	-	13
5	5	5	+	-	21
6	1	564	+	-	20
7	2	565	+	-	19
8	3	566	+	-	16
9	5	568	+	-	19
10	6	569	+	-	19
11	7	570	+	-	19
12	8	571	+	-	16
13	9	572	+	-	17
14	10	573	+	-	16
15	11	574	+	-	16
16	12	575	+	-	16
17	13	576	+	-	16
18	14	577	+	-	19
19	15	578	+	-	15
20	16	579	+	-	16
21	17	580	+	-	16
22	18	581	+	-	16
23	19	582	+	-	16
24	20	583	+	-	15
25	21	584	+	-	19
26	22	585	+	-	20

Nr.	Probe	SN	PP im Jejunum	PP im Ileum	Alter (Mo)
27	23	586	+	-	19
28	25	589	+	-	19
29	26	590	+	-	19
30	27	591	+	-	19
31	28	592	+	-	20
32	29	593	+	-	21
33	30	594	+	-	18
34	31	595	+	-	20
35	32	596	+	-	19
36	33	597	+	-	19
37	34	598	+	-	19
38	35	599	+	-	75
39	38	602	+	-	91
40	39	603	+	-	88
41	40	604	+	-	70
42	41	605	+	-	29
43	42	606	+	-	45
44	43	607	+	-	60
45	44	608	+	-	29
46	45	609	+	-	62
47	46	610	+	-	72
48	47	611	+	-	28
49	48	612	+	-	20
50	49	613	+	-	49
51	50	614	+	-	54
52	51	615	+	-	65
53	52	616	+	-	26
54	53	617	+	-	44
55	54	618	+	-	28
56	56	620	+	-	82
57	57	621	+	-	63
58	58	622	+	-	115
59	60	624	+	-	110
60	64	628	+	-	39
61	65	629	+	-	23
62	66	630	+	-	23
63	68	632	+	-	68
64	70	634	+	-	23
65	71	635	+	-	23
66	72	636	+	-	54
67	74	638	+	-	22
68	75	639	+	-	18
69	78	642	+	-	60
70	79	643	+	-	70
71	80	644	+	-	20
72	81	645	+	-	68
73	82	646	+	-	34

Nr.	Probe	SN	PP im Jejunum	PP im Ileum	Alter (Mo)
74	83	647	+	-	19
75	84	648	+	-	26
76	85	649	+	-	35
77	87	651	+	-	57
78	88	652	+	-	61
79	90	654	+	-	100
80	91	655	+	-	22
81	92	656	+	-	51
82	93	657	+	-	55
83	94	658	+	-	59
84	95	659	+	-	75
85	96	660	+	-	85
86	97	661	+	-	45
87	98	662	+	-	91
88	99	663	+	-	56
89	100	664	+	-	24
90	101	665	+	-	31
91	102	666	+	-	67
92	103	667	+	-	67
93	104	668	+	-	53
94	105	669	+	-	37
95	106	670	+	-	31
96	107	671	+	-	51
97	108	672	+	-	91

PP *Peyer'sche-Platten*

SN Schlachtnummer

Mo Monate



## 5 Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung

Tabelle 5: Daten aus der Bestimmung der Gewichtsreduktion durch die Bearbeitung der Jejunumabschnitte

Nr.	SN	G <sub>U</sub> (g/m)	G <sub>B</sub> (g/m)	GD (g/m)	GD (%/m)	G <sub>U</sub> (g/cm)	G <sub>B</sub> (g/cm)
GR-01	564	139,4	94,3	45,1	32,4	1,4	0,9
GR-02	564	121,6	49,5	72,1	59,3	1,2	0,5
GR-03	565	178,4	86,9	91,5	51,3	1,8	0,9
GR-04	565	163,7	71,3	92,4	56,5	1,6	0,7
GR-05	566	138,2	50,3	87,9	63,6	1,4	0,5
GR-06	566	135,4	59,5	75,9	56,1	1,4	0,6
GR-07	567	129,0	54,9	74,1	57,4	1,3	0,5
GR-08	568	160,5	54,8	105,7	65,8	1,6	0,5
GR-09	568	144,3	53,4	90,9	63,0	1,4	0,5
GR-10	569	143,3	44,5	98,8	69,0	1,4	0,4
GR-11	569	129,4	40,6	88,8	68,6	1,3	0,4
GR-12	570	115,2	42,5	72,7	63,1	1,2	0,4
GR-13	570	117,7	41,0	76,7	65,2	1,2	0,4
GR-14	571	112,1	36,6	75,6	67,4	1,1	0,4
GR-15	571	125,8	40,5	85,3	67,8	1,3	0,4
GR-16	572	158,3	47,3	111,0	70,1	1,6	0,5
GR-17	572	169,8	52,3	117,5	69,2	1,7	0,5
GR-18	573	137,7	49,8	87,9	63,8	1,4	0,5
GR-19	574	153,5	67,7	85,7	55,9	1,5	0,7
GR-20	575	105,5	45,4	60,1	57,0	1,1	0,5
GR-21	575	124,7	44,2	80,5	64,6	1,2	0,4
GR-22	576	149,4	41,4	108,0	72,3	1,5	0,4
GR-23	576	127,4	49,2	78,2	61,4	1,3	0,5
GR-24	577	121,1	50,3	70,9	58,5	1,2	0,5
GR-25	577	135,8	40,2	95,6	70,4	1,4	0,4
GR-26	578	137,0	39,6	97,4	71,1	1,4	0,4
GR-27	578	161,8	47,7	114,1	70,5	1,6	0,5
GR-28	579	155,2	47,0	108,2	69,7	1,6	0,5
GR-29	579	127,3	45,2	82,1	64,5	1,3	0,5
GR-30	580	129,9	42,1	87,8	67,6	1,3	0,4
GR-31	581	150,4	50,5	99,8	66,4	1,5	0,5
GR-32	582	131,8	48,7	83,1	63,1	1,3	0,5
GR-33	583	118,6	49,4	69,2	58,3	1,2	0,5
GR-34	583	122,8	51,0	71,8	58,5	1,2	0,5
GR-35	584	188,4	118,2	70,2	37,3	1,9	1,2
GR-36	584	196,0	121,4	74,6	38,1	2,0	1,2
GR-37	585	120,4	55,0	65,4	54,3	1,2	0,5
GR-38	585	140,8	63,2	77,6	55,1	1,4	0,6
GR-39	586	167,3	51,9	115,4	69,0	1,7	0,5
GR-40	586	164,8	51,2	113,6	68,9	1,6	0,5
GR-41	587	91,3	41,5	49,8	54,5	0,9	0,4
GR-42	587	94,9	39,0	55,9	58,9	0,9	0,4

SN Schlachtnummer

G<sub>U</sub> Gewicht der unbearbeiteten Probe

G<sub>B</sub> Gewicht der bearbeiteten Probe

GD Gewichts Differenz

**DANKSAGUNG**

Herrn Prof. Dr. Lücker danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die konstruktive und stets freundliche Hilfestellung bei der Bearbeitung der Thematik.

Mein besonderer Dank gilt den Kollegen auf den beiden Schlachthöfen. Sie ermöglichten mir jederzeit die Entnahme der für die vorliegende Arbeit benötigten Proben.

Mein Dank gilt ebenfalls den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Veterinär-Pathologie in Leipzig für die Mithilfe bei der Bearbeitung der histologisch zu untersuchenden Proben.

Weiterhin danke ich den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Lebensmittelhygiene in Leipzig, die mir stets hilfreich zur Seite standen. Dabei möchte ich besonders Frau Kieker für die Hilfe bei der Anfertigung der histologischen Schnitte und Herrn Wellner für die Unterstützung bei den Probenahmen auf den Schlachthöfen danken.

Für die unermüdliche Korrektur der Dissertation bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Richter.